

4. TECNOLOGIAS PARA OTIMIZAR O MANEJO REPRODUTIVO DE BOVINOS NO BIOMA AMAZÔNIA

Luiz Francisco Machado Pfeifer

George Moreira da Silva

Vanessa Lemos de Souza

Jéssica Souza Andrade

Ivan Alberto Palheta Santos

Odilene de Souza Teixeira

O aumento produtivo dos rebanhos é uma crescente preocupação, especialmente neste momento, em que a busca por práticas sustentáveis tem incentivado pesquisadores a desenvolver tecnologias que permitam produzir, cada vez mais, em menores extensões de terra, com menos insumos. Neste sentido, o manejo reprodutivo, caracterizado como substancial para a rentabilidade da pecuária bovina, por estar diretamente associado a produtividade de um rebanho, deve ser eficiente para se adequar aos preceitos de produção sustentável.

Neste âmbito, quanto mais tecnificado for o sistema de produção, com uso de biotécnicas da reprodução, como inseminação artificial (IA) e controle farmacológico do ciclo estral, maior será a exigência de otimização dos índices reprodutivos. Apesar da disponibilidade dessas biotecnologias, a eficiência reprodutiva e, conseqüentemente, a rentabilidade dos sistemas de produção, tanto de bovinos de corte, quanto de leite no Brasil, ainda é considerada baixa, quando comparado a países desenvolvidos. Com vistas a isso, uma das formas de tornar o Brasil mais competitivo na produção de produtos de origem animal é por meio do aumento dos índices reprodutivos e do mérito genético do rebanho. Para tanto, ferramentas reprodutivas como a inseminação artificial em associação com o controle farmacológico do ciclo estral, permitem que fêmeas sejam inseminadas em momentos mais adequados, facilitando assim, o manejo, a disseminação da IA e o aumento do ganho genético dos animais comercializados.

Portanto, as biotecnologias reprodutivas, aplicadas aos sistemas de produção de bovinos, tornam-se um tema emergente e necessário para potencializar o desenvolvimento tecnológico e gerencial do setor pecuário no País. Por isso, serão abordados, na sequência, três estudos (Souza, 2019; Santos, 2021; Silva, 2021) que foram conduzidos com objetivo de entender os processos que definem a fertilidade do rebanho de cria e seus impactos nos índices produtivos dessa atividade, com vistas ao desenvolvimento regional do estado de Rondônia.

4.1 Estudo 1 - Evolução da eficiência reprodutiva do rebanho de Rondônia

Alguns indicadores zootécnicos como a taxa de natalidade, a taxa de desfrute e a taxa de lotação, podem ser utilizados para verificar a eficiência produtiva e consequentemente a rentabilidade da pecuária. Entre eles, destaca-se a taxa de natalidade, que é dada pela porcentagem do número de bezerros nascidos em relação ao número de vacas cobertas ou inseminadas. Tendo em vista a importância desse indicador, desenvolveu-se uma análise integrativa do panorama de produção com a taxa de natalidade do rebanho, no estado de Rondônia (Souza, 2019).

Nesse sentido, observa-se que a taxa de natalidade média do estado de Rondônia, que inclui bovinos de corte e leite, vem diminuindo acentuadamente, quando comparado aos anos anteriores, chegando a 57,0% em 2018, apesar do rebanho continuar crescendo (Figura 1). O pico máximo desse indicador ocorreu em 2010, com taxa em torno, 63,0%, o qual possivelmente esteja relacionado com o aumento do abate de bois em relação as vacas nesse período (IBGE, 2017).

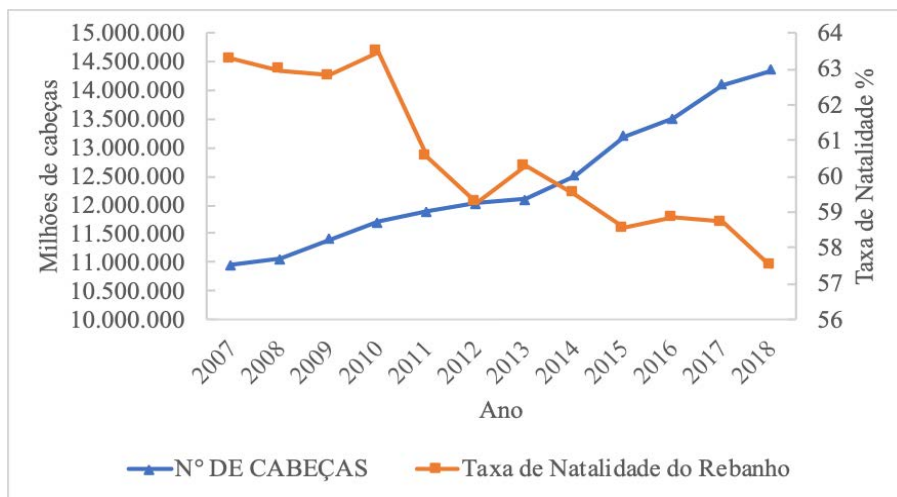


Figura 1 – Efetivo de bovinos do estado de Rondônia e a sua taxa de natalidade. Fonte: Dados de campanhas de vacinação IDARON (2007-2018).

Na perspectiva de análise da taxa de natalidade do rebanho de corte, também se observa diminuição, entretanto, sempre se mantendo acima dos 60,0%. Sendo que, o ano que apresentou menor taxa de natalidade teve percentual de 60,0% em 2018. Apesar de uma leve queda de 2017 para 2018, a taxa de natalidade do rebanho de corte é maior que a média estadual durante todos os anos analisados, mesmo não chegando aos 70,0% (Figura 2).

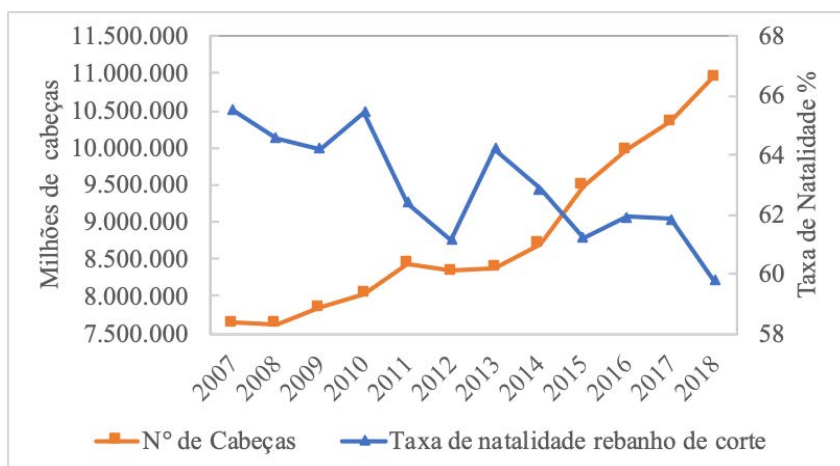


Figura 2 – Taxa de natalidade do rebanho de corte. Fonte: Dados de campanhas de vacinação IDARON (2007-2018).

De modo semelhante, no rebanho leiteiro do estado também é perceptível a queda na taxa de natalidade, porém, ainda mais acentuada quando comparada ao rebanho de corte. Com taxa média de 55,0%, presumidamente por conta da redução do número de cabeças, ao contrário do que vem ocorrendo na pecuária de corte (Figura 3).

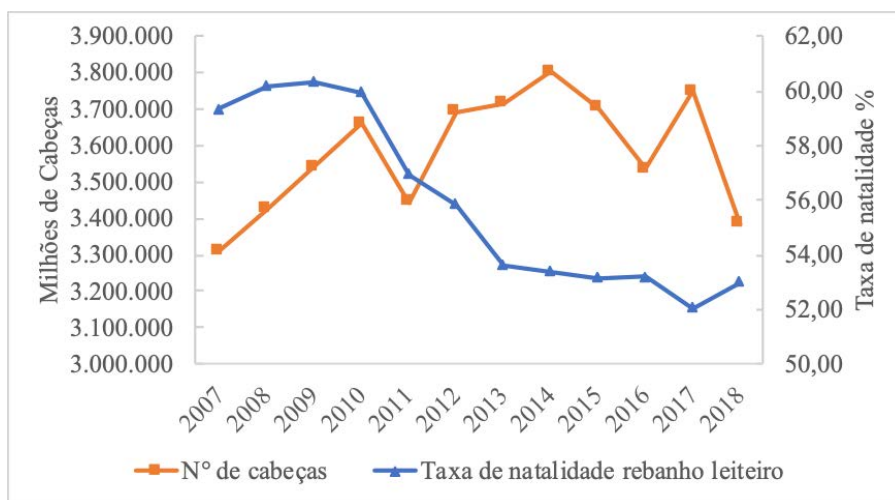


Figura 3 –Taxa de natalidade do rebanho leiteiro. Fonte: Dados de campanhas de vacinação IDARON (2007-2018).

Quando a taxa de natalidade do rebanho diminui, é necessário que haja um maior número de vacas para desmamar o mesmo número de bezerros, contudo alguns fatores podem influenciar na fertilidade do rebanho como a baixa taxa de reconcepção das vacas primíparas e o estado nutricional da fêmea no pós-parto. Em condições usuais, as vacas de primeira cria têm maior dificuldade de concepção na estação de monta subsequente, principalmente pelo desgaste durante a primeira gestação e a lactação, além do fato dela ainda estar em fase de crescimento (De Zen e Barros, 2010).

Apesar dos avanços técnicos no campo das biotecnologias, apenas 10,0% das fêmeas em idade reprodutiva, acima de 36 meses e 70,0% das novilhas entre 25 e 34 meses, são submetidas a inseminação artificial no Brasil (ASBIA, 2017), o restante são cobertas por meio da monta natural. Prática, ainda, muito utilizada nos sistemas de criação de bovinos de corte no País, pelo

fato dos animais, em sua grande maioria, serem criados em regime extensivo (Baruselli, 2019).

O baixo uso de biotecnologias da reprodução como a inseminação artificial no estado também pode justificar a diminuição da taxa de natalidade. Segundo o INDEX da ASBIA (2017), o total de vendas de sêmen do estado de Rondônia representa 3,8% do comércio de sêmen de gado de corte e 0,8% de gado leiteiro. O efetivo de vacas de corte em produção do estado, no ano de 2018, foi de 4.107.727 cabeças. Pressupondo que são utilizadas 1,5 doses de sêmen para cada fêmea emprenhar (Baruselli, 2019) e considerando que o estado comercializou 305.383 doses de gado de corte, verifica-se que somente 203.589 fêmeas são inseminadas no estado. Nesse sentido, apenas 5% do rebanho de corte do estado é inseminado e os outros 95% ainda utiliza o sistema de monta natural, que mantém a necessidade de touros na propriedade.

O rebanho leiteiro do estado em 2018 possuía cerca de 1.592.051 de vacas em idade reprodutiva, e o estado comercializou cerca de 32.724 doses de sêmen de raças de leite, logo, somente 21.816 fêmeas são inseminadas (1,5 doses de sêmen/vaca) (INDEX da ASBIA, 2017). Nesse contexto, nota-se que a porcentagem de inseminação do gado leiteiro em Rondônia é aquém, quando comparada com a pecuária de corte e com a média nacional, com cerca de apenas 1% do rebanho submetido a essa técnica. A média estadual da utilização da inseminação artificial em todo o rebanho é de 3,9%, abaixo da média nacional que é 10,0% das fêmeas em idade reprodutiva (Baruselli, 2019).

Fatores como a taxa de lotação podem estar envolvidos na queda de fertilidade do rebanho. Visto que, a área de pastagem do estado de Rondônia em 2007 era de 5,5 milhões de hectares e em 2008 já passava dos 6,4 milhões (INPE, 2016; Figura 4). Segundo o último censo agropecuário, realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017), a área de pastagem do estado de Rondônia em 2017 é de cerca de 6,1 milhões de hectares. Logo, a redução das áreas de pastagem pode estar associada a um leve aumento de produtividade, como o incremento na taxa de lotação (Figura 5) e também pela expansão da agricultura nas propriedades.

A taxa média de lotação de pastagem, do estado é de 1,3 UA/ha e vem aumentando com os passar dos anos (Figura 4; Figura 5), tal fenômeno pode pressupor incremento na produtividade. Entretanto, mesmo com a pecuária difundida em todo o estado, essa taxa ainda está abaixo do seu potencial produtivo. Logo, é possível aumentar a taxa de lotação para até 5 UA/ha na época das águas, por meio de manejo intensivo do gado e da pastagem (Euclides et al., 2001).

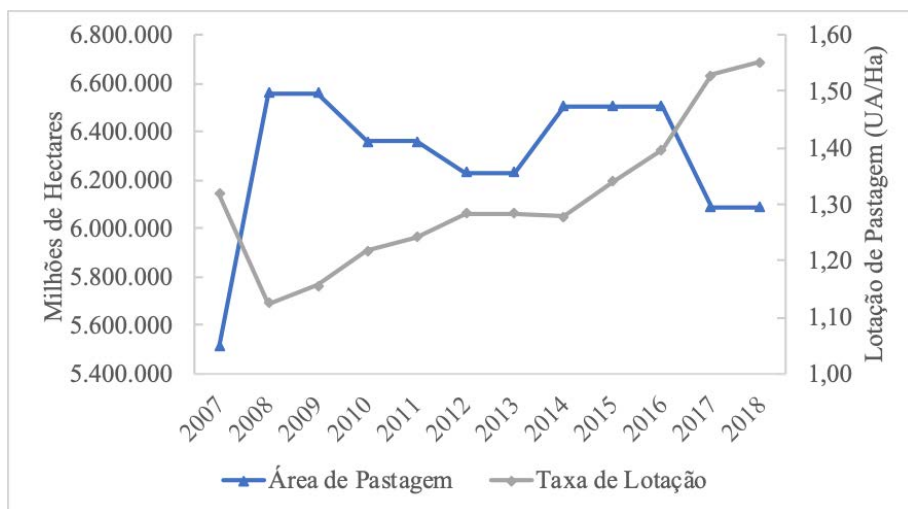


Figura 4 – Área de pastagem e taxa média de lotação por unidade animal (1 UA=450 kg de Peso Vivo) por hectare. Fonte: Dados de campanhas de vacinação IDARON (2007-2018).

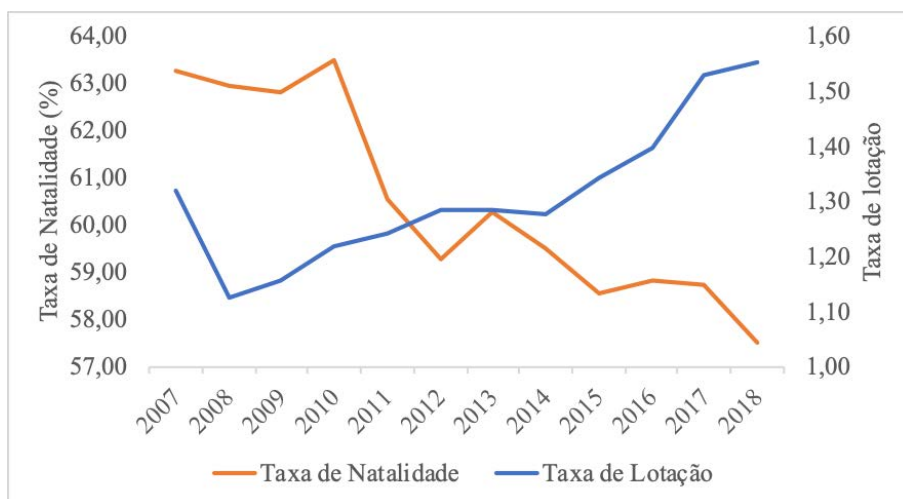


Figura 5 – Taxa de natalidade e a taxa de lotação do estado de Rondônia. Fonte: Dados de campanhas de vacinação IDARON (2007-2018).

A sazonalidade da produção de pastagem consiste em uma das maiores limitações da manutenção da produção de forragem durante o ano e influencia diretamente na produção animal, especialmente, durante o período seco (Euclides Filho; Euclides, 2010). Apesar disso, sabe-se que o estado possui potencial para aumentar a produção e produtividade da pecuária, mas isso só poderá ser atingido com investimento em tecnologias e pelo incentivo ao produtor gerado pelo retorno econômico (De Zen e Barros, 2010).

Nesse ponto, a fertilidade do rebanho é um fator que interfere na produção e na eficiência econômica da criação de bovinos, principalmente na fase de cria, na qual é necessário que as fêmeas produzam bezerros todo o ano para manter o sistema. Além disso, essa fase é influenciada pelas condições ambientais, pela genética animal (Baruselli et al., 2002; Haddad e Mendes, 2010) e pelo uso de tecnologias para garantir a produtividade animal.

Portanto, em síntese a pecuária de corte e leite ganha destaque no cenário econômico do estado de Rondônia, sendo uma atividade com potencial de crescimento. Pois, como pode-se perceber, o efetivo de rebanho vem aumentando. Contudo, é necessário que haja a superação de desafios, principalmente, no que se diz respeito a adoção de tecnologias e o acompanhamento dos índi-

ces zootécnicos do rebanho, para garantir o aumento da eficiência produtiva e a rentabilidade da produção.

4.2 Estudo 2 – Uso da detecção de cio e do GnRH para aumentar a eficiência de programas de IATF em vacas de corte

O comportamento de cio é utilizado como indicador de que a fêmea está apta para a reprodução, assim, dentro desse reportório destaca-se a aceitação de monta na fêmea por outro animal (fêmea ou macho), como sinal fidedigno para a detecção de cio (Owen, 2001). Contudo, cabe ressaltar que a identificação de cio é uma das dificuldades da inseminação artificial convencional, principalmente, porque depende da experiência do observador e da frequência das observações (Turco, 2006).

Com o advento da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), a necessidade de observação e detecção de cio deixou de existir, pois os animais são inseminados em um tempo pré-determinado (Segui et al., 2002). Mesmo sem haver a necessidade de detecção de cio em protocolos de IATF, já se sabe que as fêmeas que expressam cio são consideradas mais férteis, pois acredita-se que esses animais possuam maior resposta ovariana (Ginther et al., 1996). Sendo assim, uma das alternativas para melhorar a eficiência reprodutiva, aumentar a taxa de serviço e promover o melhoramento genético, sem a necessidade de detecção de cio, é por meio da sincronização da ovulação, para posterior inseminação artificial em tempo fixo (Baruselli et al., 2007).

Além disso, a IATF surgiu como alternativa de encurtar a estação de monta, produzir bezerros uniformes, além de simplificar o uso da inseminação artificial (Moraes, 2008). Diante desse contexto, a busca por protocolos de sincronização de ovulação de fácil aplicação, que resulte em taxas de prenhez maiores que 50,0%, é uma justificativa importante para introduzir o uso dessa ferramenta em fazendas comerciais de vacas de corte (Baruselli, 2012).

Tendo em vista a importância da manifestação de cio para a eficiência reprodutiva, apresentaremos na sequência os resultados da pesquisa de Souza (2019), que avaliou a fertilidade de vacas de corte que expressam cio em proto-

colos de IATF, assim como a aplicação de Cipionato de Estradiol na expressão de cio e do Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH), como indutor de ovulação, no dia da inseminação artificial, em animais que não expressam cio. Para isso, foram utilizadas 804 vacas lactantes da raça Nelore entre 40 e 60 dias pós-parto, com escore de condição corporal (ECC) entre 2,5 e 3,5 na escala de 1 a 5 (onde 1= animal muito magro e 5 = animal obeso, conforme Edmonson et al. (1989), mantidas em sistemas de pastejo de *Brachiaria brizantha* e com acesso à vontade a água e sal mineral.

Para a sincronização do estro, em um dia aleatório do ciclo estral denominado dia 0, todas as fêmeas receberam 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol®, Zoetis, São Paulo, Brasil) por via intramuscular (i.m) e um implante intravaginal de liberação de progesterona (P4; 1,9 mg de progesterona, CIDR®, Pfizer Saúde Animal, São Paulo, Brasil). No dia 7, as fêmeas receberam 12,5 mg de Dinoprost de Trometamina (análogo de prostaglandina (PGF), Lutalyse®, Zoetis, São Paulo, Brasil) i.m. No dia 9, o CIDR foi removido e todas as fêmeas receberam 300 UI de Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG, Novormon®, Zoetis, São Paulo, Brasil) i.m. Os animais foram marcados na região sacro-caudal para identificação da expressão de cio entre a retirada do implante de P4 e a IATF.

Ainda no dia 9 os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos: 1) grupo ECP (n=269), vacas que receberam 1 mg de ECP (E.C.P®, Pfizer, São Paulo, Brasil, i.m. no dia 9; 2) grupo ECP+GnRH (n=269), vacas que receberam ECP no dia 9, sendo que as vacas desse grupo que não apresentavam cio, até 48 h após a remoção do dispositivo de P4, receberam GnRH no dia da IATF (D11); 3) grupo GnRH (n=266), vacas não receberam ECP no dia 9, sendo que as vacas que não manifestaram cio, até 48 h após a remoção do dispositivo de P4, receberam GnRH no dia da IATF (dia 11).

A expressão de cio foi avaliada no dia 11, ou seja, no dia da inseminação (IATF) e foi considerado em cio as vacas que tiveram a remoção total da tinta da garupa. A dose de GnRH utilizada nos grupos ECP+GnRH e GnRH foi 10,5 µg de acetato de buserelina (Gonaxal®, Biogénesis Bagó, Buenos Aires, Argentina) i.m. Os animais foram submetidos à IATF no dia 11. Também

foi avaliado o diâmetro do folículo pré-ovulatório no dia da IATF (n=138), por meio de ultrassonografia transretal. Trinta dias após a IATF foi realizado o diagnóstico de gestação através de ultrassonografia transretal (SIUI® CTS-900, China) (Foto 1).



Foto 1 – Vacas da raça Nelore durante o manejo reprodutivo de IATF.
Foto: Luiz Francisco Machado Pfeifer.

A proporção de animais que expressaram cio foi maior ($P < 0,001$) no grupo ECP com 68,7% (185/269), seguido do grupo ECP-GnRH com 57,2% (154/269) e pelo GnRH com 35,7% (95/266). Isso pode ser atribuído ao fato de o cipionato de estradiol ser utilizado como alternativa ao benzoato de estradiol, respondendo como indutor de ovulação, após a retirada do implante de progesterona. Essa prática é realizada com vistas a diminuir o número de manejos da IATF e manter similar a taxa de prenhez (Colazo et al., 2003; França et al., 2015), pois promove a ovulação em, aproximadamente, 70 horas após a remoção do dispositivo de progesterona (Reis et al., 2004; Martins et al., 2005).

O Cipionato de estradiol exerce influência no comportamento de cio das fêmeas (Sá Filho et al., 2011), logo, infere em aumento da proporção de animais em cio, como relatado em vacas nelore pós-parto (Pfeifer et al., 2018), e verificado no presente estudo. Ainda, ressalta-se que, entre os animais que expressaram cio, não houve diferença entre a proporção de prenhez dos grupos ECP=61,6% (114/185), ECP – GnRH=68,1% (105/154) e GnRH=63,1% (60/95) ($P=0,4$). Porém, foi possível observar que os animais do grupo GnRH,

aqueles que não receberam cipionato e apresentaram cio, obtiveram taxa de prenhez semelhantes aos animais que receberam cipionato de estradiol.

Em adição, entre os animais que não expressaram cio também não houve diferença na proporção de prenhez entre os grupos, sendo o ECP com 52,3% (44/84), o ECP – GnRH com 48,6% (56/115) e GnRH com 53,8% (92/171) ($P=0,7$). Também, não houve diferença para a taxa de prenhez por inseminação ($P=0,8$), com percentagem de 58,7% (158/269) para as vacas do grupo ECP, com 59,8% (161/269) para o grupo ECP-GNRH e, com 57,1% (152/266) para GnRH. Na separação dos animais pela expressão ou não de cio, durante a retirada do implante e a IATF, observou-se que as fêmeas que apresentaram cio possuíam maior taxa de prenhez por inseminação ($P<0,001$), com percentuais de 64,3% (279/434), quando comparado as fêmeas que não manifestaram cio no mesmo intervalo, com valor de 51,9% (192/370).

Logo, presume-se que a fêmea bovina que manifesta cio em protocolos de IATF possui maior resposta ovariana e, conseqüentemente, maior fertilidade, o que aumenta a taxa de prenhez, pois, já se sabe que animais submetidos aos protocolos possuem até três vezes mais chances de prenhez, quando comparados a fêmeas que não expressam cio (Sá Filho et al., 2011). No presente estudo a probabilidade de manifestação de cio aumentou, acompanhando a curva de crescimento folicular (Figura 1).

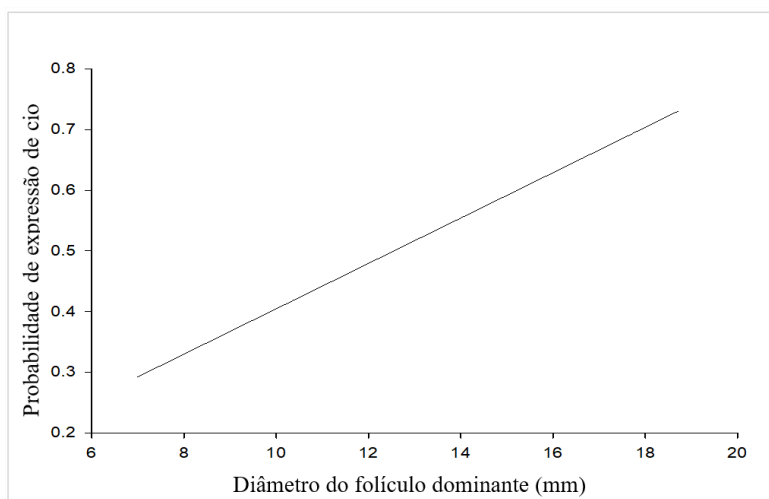


Figura 1 – Probabilidade de expressão de cio de acordo com o diâmetro do folículo dominante ($P=0,04$) $n=138$.

As concentrações de estradiol, no momento da inseminação, podem influenciar diretamente na fertilização, pois elas alteram o ambiente uterino, propiciando a motilidade espermática e sua longevidade até a ovulação (Colazo et al., 2004; Perry; Perry, 2009; Besbaci et al., 2018). Esses fatores podem indicar o porquê de vacas que exibem cio possuírem maiores taxas de prenhez. Entretanto, o cipionato de estradiol tem a capacidade de induzir fêmeas ao “cio falso”, mesmo que estas não possuam folículos pré-ovulatórios, isso foi observado em vacas girolando ovariectomizadas, que ao serem tratadas com cipionato de estradiol apresentaram cio (Souza et al., 2017).

A aplicação do GnRH no dia da inseminação artificial ou em momentos específicos do protocolo, pode coincidir com a presença de um folículo dominante, da primeira ou segunda onda folicular, podendo induzir a formação de um corpo lúteo acessório. Isso, ocasiona aumento das concentrações de progesterona e reduz a produção de estradiol, favorecendo a sobrevivência embrionária (Stevenson et al., 2004; Wheaton et al., 2007). Rosenberger et al. (1991) sugerem que o momento da aplicação do GnRH também é importante, em virtude da ação na liberação do Hormônio Luteinizante (LH) endógeno, que auxilia na formação do corpo lúteo. Nesse sentido, esses autores sugerem que o momento ideal para a aplicação do GnRH é no dia da inseminação artificial, como foi realizado no presente estudo, ou ainda, até 6 horas antes da inseminação. Ressalta-se que a resposta fisiológica das vacas à aplicação de GnRH depende de algumas características foliculares, como o folículo possuir um diâmetro de, pelo menos, 10 mm para responder ao estímulo do LH.

No presente estudo, os animais que não exibiram cio e só receberam GnRH, como indutor de ovulação, apresentaram uma taxa de prenhez de 53,8% (92/171), não sendo diferente em relação ao grupo ECP (52,3%, 44/84) e ECP+GnRH (48,6%, 56/115). Ainda, a aplicação de GnRH no dia da IATF não aumentou a taxa de prenhez dos animais que não expressaram cio (Perry; Perry, 2009, Sá Filho et al., 2011). Em síntese, as vacas que exibiram cio entre a retirada do implante e a IATF têm maiores taxas de prenhez, quando comparadas aos animais que não exibiram cio em protocolos de IATF. Além disso, as vacas que receberam cipionato de estradiol, como indutor de ovula-

ção, apresentaram maior expressão de cio. Por fim, a aplicação de GnRH no dia da inseminação artificial não aumentou a taxa de prenhez de fêmeas em protocolos de IATF.

4.3 Estudo 3 – Qualidade espermática e cio de vacas de corte inseminadas em tempo fixo

Na América do Sul, os protocolos de sincronização são fundamentados no uso de estradiol e progesterona para controlar a dinâmica folicular, lútea e para sincronizar a ovulação, permitindo a IA sem a detecção de cio. No entanto, vários estudos demonstraram que vacas que expressam cio antes da IATF possuem maiores taxas de prenhez/IA e uma probabilidade de 3,3 vezes maior de ficarem prenhas, quando comparadas a fêmeas que não expressaram cio até o momento da IATF (Perry et al., 2007; Sá Filho et al., 2010; Richardson et al., 2016). Durante o estro, as concentrações de estradiol atingem o pico em aproximadamente 36 horas antes da ovulação (Chenault, 1975) e as concentrações pré-ovulatórias aumentadas de estradiol influenciam o transporte espermático (Hawk, 1983), resultando em maior sucesso da fertilização, melhor qualidade e viabilidade do embrião (Miller, 1976; Jinks, 2013) e otimização da taxa de prenhez (>60%) (Perry et al., 2005; Perry; Perry 2008).

Entretanto, para o sucesso da IA é necessário avaliar outros fatores que comprometem a fertilidade, como por exemplo, a qualidade do sêmen dos touros. Embora as centrais de inseminação artificial selecionam touros geneticamente superiores e que apresentam sêmen de alta qualidade, a fertilidade ainda é variável entre touros e até entre os ejaculados do mesmo touro, indicando a necessidade de critérios mais rigorosos para identificar os ejaculados adequados para IA (Ibanescu et al., 2020). Com a evolução das técnicas de avaliação de sêmen nas últimas décadas, especialmente com a incorporação da tecnologia de análise de sêmen assistida por computador (CASA), foi possível obter informações precisas sobre a concentração, motilidade, morfologia e outras variáveis relacionadas à qualidade do sêmen (Lu et al., 2014). Assim, a partir do uso do CASA para medir as variáveis de espermatozoides, pode-se

classificar as amostras com baixa motilidade e identificar os espermatozoides com padrões de motilidade hiperativos. Os espermatozoides hiperativos são caracterizados por um movimento vigoroso e não linear, causado por uma amplitude aumentada de batimentos flagelares que aumenta as chances de novas concepções das fêmeas. Pois, auxilia na capacidade do espermatozoide transitar pelo trato reprodutivo feminino e fecundar o oócito (Schmidt e Kamp, 2004).

A interação da resposta ovariana e o grau de hiperativação espermática já foi demonstrado anteriormente (Pfeifer et al., 2019). Nesse estudo, que utilizou o diâmetro do folículo como indicador do momento da ovulação, observou-se que vacas com folículos menores no dia da IATF tiveram uma menor probabilidade de engravidar, quando foram inseminadas com espermatozoides hiperativos. Em contraste, quando inseminadas com espermatozoides não hiperativos, tiveram prenhez por IA (P/IA) aceitáveis e semelhantes (Pfeifer et al., 2019). Embora, esses resultados demonstraram um efeito do grau de hiperativação espermática na fertilidade, a utilização dessa metodologia é pouco prática para aplicação no campo, uma vez que exige um profissional qualificado e ultrassom para mensurar o diâmetro do folículo pré-ovulatório.

Portanto, a identificação de novos métodos para determinar o momento da ovulação e diferentes padrões de movimento dos espermatozoides torna-se importante para ajudar a estimar a capacidade de fertilização de amostras de sêmen bovino. Bem como para fornecer novas ideias para a otimização dos protocolos de IATF, uma vez que, a hiperativação é uma das características de aquisição da capacidade de fertilização dos espermatozoides. Com base nessas considerações, Silva (2021) avaliou os efeitos da qualidade do sêmen de touros e do cio das vacas em resposta a fertilidade, quando submetidas a IATF. Assim, foi hipotetizado que vacas que expressam cio, até 48 horas após a remoção do implante de progesterona, ovulam mais cedo. Além disso, presumia-se que o grau de hiperativação espermática afeta a fertilidade de vacas que expressam cio ou não (sem cio), até o momento da IATF.

Com vistas a promover maior confiabilidade experimental utilizou-se a aplicação do protocolo experimental em dois rebanhos. Assim, no experimento 1, a coleta de dados foi realizada na fazenda experimental da Embrapa Ron-

dônia. Os animais apresentavam escore de condição corporal 2,75-3,5 (ECC; intervalo de 1-5, onde 1= emaciada e 5 obesa; (ECC; escala 1-5; Ayres, et al., 2009) e eram mantidos em sistemas de pastejo de *Brachiaria brizantha* e com acesso à vontade a água e sal mineral.

Inicialmente, 24 vacas primíparas foram submetidas a um protocolo IATF a base de estradiol e progesterona. Todos os animais receberam um dispositivo intravaginal liberador de progesterona (1,9 g de progesterona, CIDR®, Pfizer Animal Health, São Paulo, Brasil) e 2 mg de benzoato de estradiol (BE, Gonadiol®, Zoetis, São Paulo, Brasil) por via intramuscular (i.m) no dia 0 (D0) do protocolo. No dia 8 (D8), o CIDR foi removido e administrado 150 µg de d-cloprostenol i.m (análogo de PGF2α; Croniben®, Biogénesis-Bagó, Curitiba, Brasil) e 1 mg de cipionato de estradiol (ECP, E.C.P®, Pfizer Animal Health, São Paulo, Brazil) e 300 UI de Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG, Novormon®, Syntex, Buenos Aires, Argentina) i.m. A IATF foi realizada 48 horas após a remoção do implante de progesterona com sêmen convencional (Figura 1). Posteriormente, 12 animais foram ressincronizadas com o mesmo protocolo descrito, totalizando 36 IAs. No momento da remoção do dispositivo intravaginal, os animais receberam dispositivo detector de cio (EstroTECT, Rockway Inc, Spring Valley, WI) para identificar os animais que expressam cio entre a retirada do implante de progesterona e a IATF.

Os animais foram submetidos à avaliação ultrassonográfica (SIUI® CTS-900, China) para mensuração do folículo dominante e confirmação da ovulação. O diâmetro e localização dos folículos ≥ 5 mm foram documentados para ambos os ovários e registrados em mapas individuais para monitoramento posterior. As avaliações foram realizadas a cada 24 horas entre a remoção do implante de progesterona e a IATF, e 12 horas a partir da IATF. A ausência do folículo pré-ovulatório (POF) e eventual presença de corpo lúteo no mesmo ovário, foi critério para confirmação da ovulação.

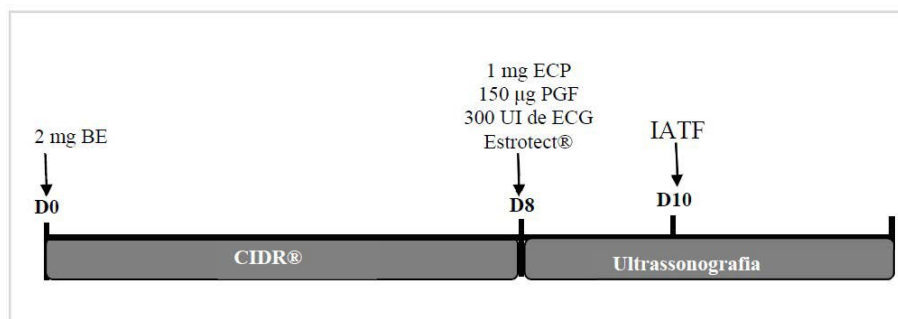


Figura 1 – Design do experimento 1 de vacas lactantes submetidas ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

No experimento 2, foram utilizadas 473 vacas múltiparas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) com períodos de pós-parto entre 60-100 dias e ECC 2,5-3,5 (ECC; escala 1-5; Ayres, et al., 2009). Os animais eram oriundos de uma fazenda comercial em Rondônia e mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* com livre acesso a água e sal mineral. Neste experimento, os animais receberam o mesmo protocolo hormonal descrito no Experimento 1 (Figura 1).

No momento da remoção do dispositivo intravaginal de P4, todas as vacas receberam uma marcação com giz na região lombo-sacral (Raidl-Maxi, RAIDEX GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha) para identificar os animais que expressaram cio entre a retirada do implante de progesterona e a IATF. Animais que apresentavam remoção de 75% da marcação no dia da IA foram considerados positivos para a expressão de cio. A IATF foi realizada 48 horas após a remoção do implante de progesterona. Antes da IATF, os animais foram avaliados por ultrassonografia para mensuração do folículo dominante.

As partidas de sêmen utilizados neste experimento foram adquiridas de uma central de processamento de sêmen (Seleon Biotecnologia, Itatinga, SP, Brasil). As amostras foram submetidas ao CASA (Ivos-UltiMate®; Hamilton Thorne Biosciences, Beverly, MA, EUA) para classificação do sêmen, conforme o grau de hiperativação espermática. Para cada amostra de sêmen foram avaliadas aproximadamente 100.000 células e todas as análises foram realizadas pelo mesmo técnico. Para caracterizar o sêmen Hiperativo (+) e não hiperativados (H-) foram seguidos os mesmos critérios adotados por Pfeifer et

al. (2019), sendo assim, foram avaliadas as seguintes variáveis: velocidade curvilínea (VCL), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH) e linearidade (LIN). No entanto, o ponto de corte adotado para classificar as partidas em sêmen H (+) e H (-) apresentavam médias diferentes daqueles aplicadas por Pfeifer (2019), de modo que, no presente estudo foram considerados: H+ aqueles com maior ALH (7 μm) e VCL (149 $\mu\text{m/s}$), e menor LIN (50,6%) e; H- aqueles que apresentaram menor ALH (6,3 μm) e VCL (142,5 $\mu\text{m/s}$), e maior LIN (55.5%). A partir desse critério, foram selecionadas as partidas oriundas de três touros que possuíam sêmen com características de espermatozoides H (+) e H (-).

As partilhas de sêmen hiperativo (H +) e não-hiperativo (H -) de cada um dos três touros selecionados, foram usadas para inseminação de vacas que expressaram cio (Cio) e sem expressão de cio (SCio). Assim, após estas atribuições, os animais foram alocados para os seguintes grupos: CioH+ (n=144), CioH- (n=148), SCioH+ (n=112) e SCioH- (n=69). O diagnóstico gestação foi realizado trinta dias após a IATF, por meio da ultrassonografia transretal (SIUI CTS-900, sonda linear com MHZ, Guangdong, China). A detecção de uma vesícula embrionária com embrião viável foi usada como indicador de prenhez. A P/IA foi calculada como a proporção de vacas prenhes 30 dias após a IATF, dividido pelo total de vacas inseminadas.

No Experimento 1, quatro vacas não responderam ao protocolo hormonal e, portanto, foram descartadas do experimento. Dos 32 animais que continuaram no experimento, 59,3% (19/32) expressaram cio até 48 horas após a remoção do implante de progesterona e 93,8% (30/32) das vacas ovularam. Os resultados demonstraram que vacas que expressaram cio até 48 horas após a remoção do CIDR, ovularam mais cedo em relação as vacas que não expressaram cio ($P<0,02$) (Tabela 1).

Tabela 1– Respostas ovarianas de vacas Nelore que expressaram cio e sem cio em até 48 horas a partir da remoção do implante.

Variáveis	Cio em até 48 horas	Sem cio em até 48 horas	Valor de P
Diâmetro do POF (mm)	11,4 ± 1,2	12,2 ± 1,6	0,16
Crescimento por dia do POF (mm)*	1,3	1,5	0,32
Momento da ovulação (horas)**	73,3 ± 13,1A	95,5 ± 37,5B	0,02
Taxa de ovulação	94,7% (18/19)	92,3% (12/13)	0,78

^{AB} Letras diferente na mesma linha, diferem entre si (P<0,05). * Entre a remoção do CIDR e a ovulação; **Após a remoção do CIDR.

No experimento 2, não houve efeito (P=0,10) do grau de hiperativação espermática na fertilidade de vacas que expressaram cio ou sem cio em até 48 horas após a remoção da P4 e na interação do grau de hiperativação espermática e cio (P=0,42). Entretanto vacas que expressaram cio tiveram maior taxa de Prenhez/IA (P<0,05). Os dados para P/IA baseados na expressão de cio (Cio e SCio) e grau de hiperativação espermática (H + ou H-) estão incluídos na Figura 2.

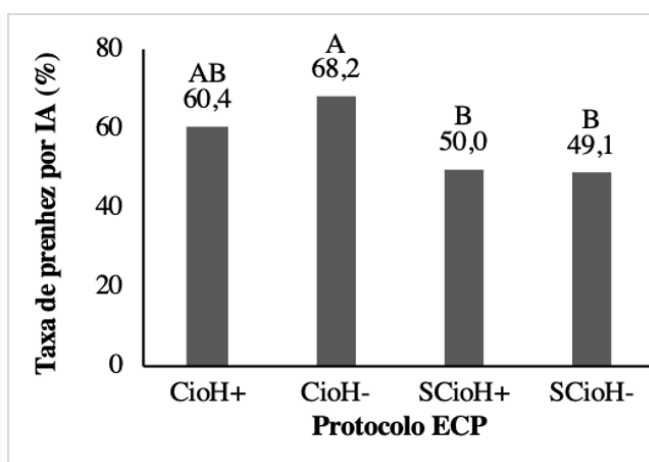


Figura 2 – Taxa de prenhez de vacas de corte inseminadas com sêmen (H+ ou H-) em relação aos animais que expressaram cio ou não até o momento da IATF; letras diferentes indicam efeito entre os grupos (P<0,05).

Apenas 256 animais foram submetidos a mensuração do diâmetro do POF no dia da IATF. Vacas que expressaram cio tinham maior diâmetro do POF, do que vacas que não expressaram cio. Além disso, a probabilidade de prenhez aumentou conforme o diâmetro folicular aumentava de diâmetro ($P=0,04$; Figura 3) e a probabilidade de a vaca expressar cio aumentava de acordo com aumento do diâmetro do POF ($P=0,01$; Figura 4). Entretanto, não foi observado diferenças entre o grau de hiperatividade espermática e interação cio*hiperatividade. As médias do diâmetro do POF estão descritas na Tabela 2.

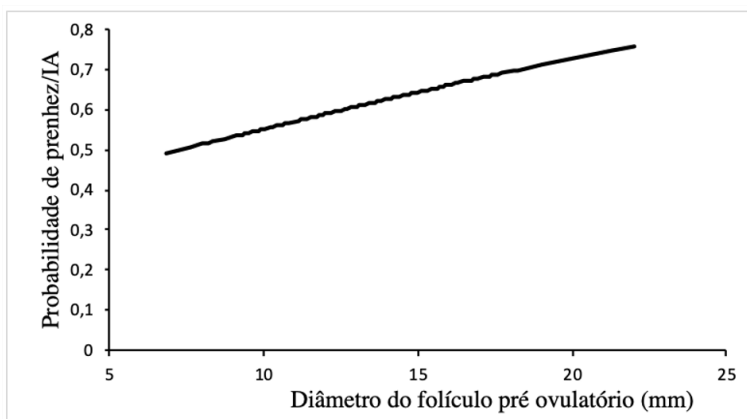


Figura 3 – Probabilidade de prenhez de acordo com o diâmetro do folículo dominante ($P=0,04$).

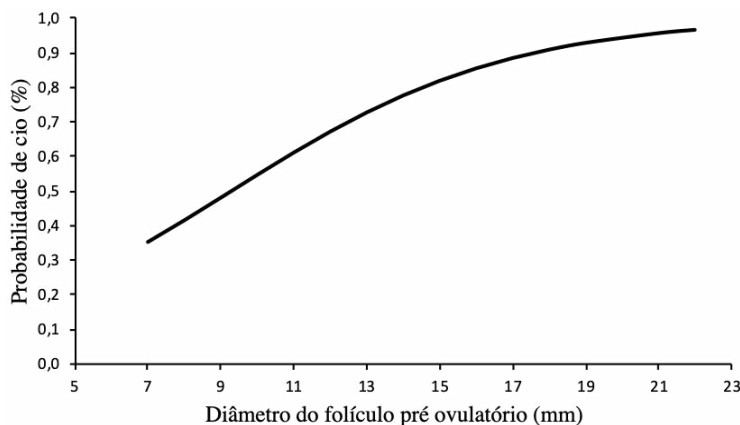


Figura 4 – Probabilidade de cio de acordo com o diâmetro do folículo dominante ($P=0,01$).

Os dados para P/IA geral, com base na classificação da expressão cio (Cio ou sem cio até 48 horas após a remoção do implante de progesterona) e hiperatividade espermática (H+ ou H-), estão incluídos na Tabela 2. Na P/IA geral, não foi observado o efeito do grau de hiperatividade na fertilidade, entretanto, vacas que expressaram cio tiveram maior taxa de prenhez comparado as vacas que não expressaram cio até 48 horas após a remoção do implante de progesterona.

Tabela 2 – Taxa de prenhez e diâmetro do folículo pré-ovulatório de acordo com a expressão de cio e o grau de hiperativação espermática.

	Expressão de cio		Grau de Hiperatividade		Valor de P		
	Cio	Sem cio	H+	H-	Cio	Hiper ¹	Cio* Hiper ¹
Pre-nhez/ IA	63,6% (186/292) A	48,6% (88/181)B	55,4% (142/256)	60,8% (132/217)	0,07	0,25	0,40
POF (mm)	13,5 ± 0,2A	12,1 ± 0,3B	13,3 ± 0,2	13,0 ± 0,2	0,001	0,38	0,35

^{AB} Letras diferentes indicam diferença entre os grupos (P<0,05). ¹ Hiper: hiperatividade.

Em conclusão, vacas que expressam cio até 48 horas após a remoção da P4 ovulam mais cedo e têm maior probabilidade de terem um POF de maior diâmetro e probabilidade de concepção na IATF, do que as vacas que não expressam cio. No entanto, o grau de hiperativação espermática não afetou a fertilidade de vacas de corte, independentemente da ocorrência de cio. Assim, com base nessas considerações acreditamos que seria importante conduzir novos experimentos com partidas de sêmen que apresentem um grau de hiperativação espermática mais hiperativada (H+), do que as utilizadas nesse experimento.

4.4 Estudo 4 – Efeito da época do ano e da suplementação energético-proteica no metabolismo e na resposta ovariana de vacas leiteiras criadas no bioma Amazônia

No sistema reprodutivo de fêmeas, o estresse térmico influencia na fisiologia ovariana, aumentando a incidência de anestro e ovulações silenciosas (Gwazdauskas et al., 1981), e acarreta em inibição da dominância folicular (Badinga et al., 1993). O estresse térmico reduz o grau de dominância do folículo selecionado e isso pode levar a uma redução da capacidade esteroidogênica das células da teca e da granulosa, diminuindo as concentrações de estradiol no sangue (De Rensis et al., 2002) e redução nas concentrações plasmáticas de LH (Wise et al., 1988). Os níveis plasmáticos de progesterona podem estar elevados ou baixos, dependendo se o estresse calórico é agudo ou crônico e do estado metabólico do animal (De Rensis et al., 2002).

Nesse sentido, em vacas Holandês, no verão egípcio e no início da lactação, observam-se alterações no diâmetro de folículo dominante e alterações bioquímicas no fluido folicular, o que poderia resultar em menor viabilidade do oócito (Shehab-El-Deen et al., 2010). Bilego et al. (2013) observaram menor diâmetro de folículo ovulatório em novilhas Girolando na época de chuvas com alto calor e umidade, no Centro-Oeste brasileiro.

As alterações causadas pelo estresse térmico, nos níveis hormonais e crescimento folicular, podem potencialmente ser controladas por administração exógena de hormônios, por meio de programas de inseminação artificial em tempo fixo. Em estudo, verificou-se que tratamentos de vacas Holandês em lactação no verão do Mississippi, EUA, com 100 mcg de GnRH, no momento da detecção do cio seguido de inseminação com 10 horas-12 horas, aumentou a concentração de progesterona e, conseqüentemente na taxa de gestação (Ullah et al., 1996).

Em estudo com 1056 vacas da raça Holandês, de alta produção e em lactação, verificou-se que a sincronização do ciclo estral e ovulação, usando protocolo hormonal de IATF, melhorou as taxas de concepção no verão (43,3%), sendo semelhante àquelas obtidas no inverno (39,7%), estação em que as vacas

estão em conforto térmico (De Rensis et al., 2017). O protocolo utilizado consistia na inserção de dispositivo de P4 por 5 dias, seguido de injeções de gonadotrofina coriônica equina (eCG) e Prostaglandina F2 alfa (PGF2 alpha) no momento da retirada do implante (P4), ainda 48 horas após esse procedimento foi realizado a injeção de GnRH, e a IATF foi operacionalizada após 60 horas da remoção do implante (P4).

Entre as possíveis explicações dos autores para esse melhor resultado de fertilidade, com protocolo curto no verão, está o menor tempo de exposição dos oócitos imaturos aos efeitos do estresse térmico, devido à indução hormonal de ovulação mais precoce, aliado à manutenção dos níveis de progesterona (Garcia-Ispuerto et al., 2013). De fato, o estresse térmico pode alterar a duração das ondas foliculares e interferir na dominância folicular e no tamanho dos folículos (Guzeloglu et al., 2001; De Rensis; Scaramuzzi, 2003).

Sob condições de estresse térmico, a IATF ainda traz resultados inconsistentes em relação à taxa de concepção, mas observa-se grande efeito de cargas térmicas sobre tais índices, talvez por causa dos efeitos do estresse sobre a ovulação (Schüller et al., 2014). Kornmatitsuk et al. (2008) observaram que vacas Holandês sob condições de estresse de verão apresentam uma maior proporção de anovulações, do que na estação fria do ano, com menor taxa de concepção na primeira inseminação pós-parto.

Nessa perspectiva, sob condições de estresse térmico, vacas de leite tiveram 3,9 vezes mais chance de falhas na ovulação (López-Gatius et al., 2005). Krininger et al. (2003) sugerem que animais de origem europeia possam ter o momento da ovulação diferente de zebuínos, quando em condições de estresse térmico, pela observação das diferenças de clivagem entre embriões obtidos dessas origens. Assim, os diferentes esquemas de IATF podem ter resultados controversos, quando aplicados em animais em condições de pós-parto e estresse térmico.

Segundo Ferraz Junior et al. (2016) a antecipação ou atrasos de ovulação podem interferir na fertilidade, uma vez que a inseminação é feita em tempo fixo após a retirada dos hormônios. Desse modo, torna-se importante identificar o efeito de determinado esquema de inseminação sobre a ovulação

em condições de estresse, para então propor procedimentos que solucionem o problema, como alteração do momento de inseminação de acordo com os efeitos do estresse no momento da ovulação.

Nesse sentido, Santos (2021) desenvolveu uma experimentação a campo na unidade de pesquisa da Embrapa Rondônia, em Porto Velho-RO. O tipo climático do local é Am, segundo a classificação de Köppen, tropical chuvoso, com uma estação relativamente seca durante o ano e temperaturas médias anuais de 25,5 °C, máxima de 31,5 °C e mínima de 20,7 °C (Alvares et al., 2013). A temperatura média do ar apresenta pouca variação ao longo do período e o regime pluviométrico é caracterizado por um período mais chuvoso, que está compreendido entre os meses de novembro e abril, com precipitações superiores a 220 mm. O período mais seco, foi constatado entre os meses de maio e setembro, com precipitações inferiores a 55 mm (Rondônia, 2018).

Para essa experimentação, foram utilizadas 12 vacas Girolando (5 vacas $\frac{3}{4}$ e 1 vaca $\frac{1}{2}$ por grupo, todas com \pm 60 dias pós-parto), com escore corporal médio de 3,2 (de uma escala de 1 a 5 - Edmonson et al., 1989), submetidas em avaliação de dois fatores (período do ano x suplementação), sendo estes: estação chuvosa ou estação seca; com ou sem suplementação. Os animais foram separados entre os grupos experimentais de acordo com o grau sanguíneo e produção de leite, com a finalidade de tornar os grupos homogêneos.

Em cada período experimental de 34 dias, dedicavam-se 11 dias para início do protocolo hormonal e avaliações por ultrassonografia da dinâmica ovariana. Em seguida, destinavam-se nove dias para avaliação de consumo voluntário e comportamento de pastejo, com 14 dias de adaptação. O quadro resumo do período experimental está representado na Figura 1.

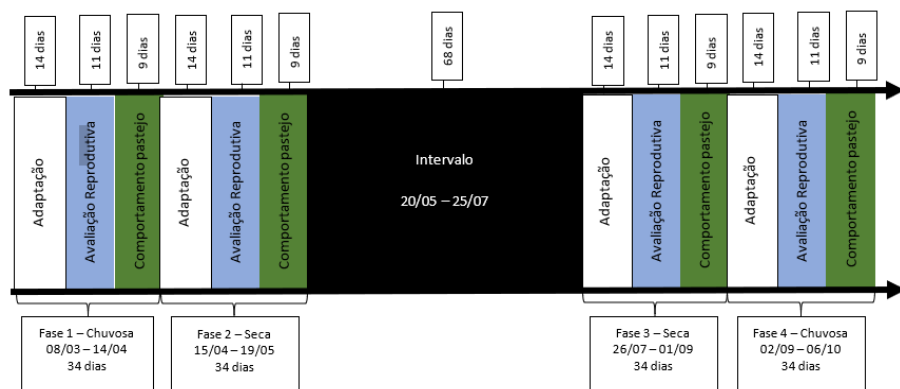


Figura 1 - Quadro resumo dos períodos experimentais.

Os animais foram acondicionados em um sistema de lotação intermitente em Capim Zuri (*Panicum maximum* Zuri), com 1 dia de ocupação e 22 dias de descanso. Foi estabelecido oferta de forragem inicial de 10 kg de MS/100Kg de peso vivo, em área média de 300 m² por piquete, com taxa de lotação instantânea de 42,0 UA/ha. As informações de massa de forragem, matéria seca, altura de entrada e de saída constam na Tabela 1.

Tabela 1 - Matéria verde (MV), Matéria seca (MS), produção de MS/ha e altura do Capim zuri (*Panicum maximum* Zuri) na entrada e saída dos animais durante o período experimental.

Variáveis	Chuvas		Seca	
	Entrada	Saída	Entrada	Saída
MV/ha (kg)	12.117,0	9.442,5	9.070,0	6.700,0
MS (%)	30,0	32,0	32,0	34,0
MS/ha (kg)	3.635,1	3.021,6	2.766,3	2.244,5
Altura (cm)	78,0	46,0	47,0	2,5

A ordenha foi realizada duas vezes ao dia (07:30 h e 13:30 h), por intermédio de ordenhadeira móvel com a disposição dos animais lado a lado. Todos os animais encontravam-se em estágio aleatório do ciclo estral e receberam, simultaneamente, 2 mg de benzoato de estradiol e um dispositivo intravaginal liberador de progesterona (CIDR) no dia 0 para sincronizar a onda folicular.

O CIDR foi removido juntamente com aplicação intramuscular de 500 µg d-Cloprostenol (PGF) no dia 8. No dia 9 as vacas receberam 1 mg de benzoato de estradiol intramuscular. O procedimento foi repetido em todos os animais em cada tratamento. A avaliação da dinâmica folicular foi realizada por meio de ultrassonografia a partir do dia 8, com avaliações a cada 12 horas a partir dessa data. Em cada avaliação, calculava-se o diâmetro do folículo dominante, e, quando detectada a ovulação, anotava-se a hora da provável ovulação e o último diâmetro folicular medido de cada animal.

Para avaliação das dietas, verificou-se inicialmente a composição química da forragem, tanto no período chuvoso quanto no período seco, com a finalidade de calcular o déficit nutricional para elaboração do concentrado. As exigências energéticas e proteicas foram extraídas do NRC (2001) e a partir dessa informação formulou-se o concentrado, a base de farelo de soja e fubá de milho, com teor de proteína bruta de 30% e nutrientes digestíveis totais de 88%. A composição química das forrageiras nos diferentes períodos assim como a composição do concentrado encontra-se na Tabela 2. Os sais minerais foram fornecidos à vontade. O consumo de concentrado nunca foi superior a 1,5% do peso vivo do animal, a fim de evitar o efeito substitutivo, isto é, a substituição do consumo da forragem pelo concentrado.

Tabela 2 - Teor de matéria seca (MS), cinzas, fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), nutrientes digestíveis totais (NDT) e energia digestível (ED) de capim zuri (*Panicum maximum*) nas estações chuvosa e seca e o concentrado utilizado no período experimental.

Variáveis	Pastagem		Concentrado
	Chuvos	Seca	
MS (%)	27,0	33,5	90,0
Cinzas (%MS)	3,0	2,5	15,0
FDN (%MS)	72,5	76,5	22,0
FDA (%MS)	50,5	54,0	10,0
EE (%MS)	2,2	1,85	2,5
PB (%MS)	11,5	7,5	30,0
NDT (%MS)	51,0	45,0	88,0
ED (kcal)	22,5	19,8	38,8

Para cada estação do ano (chuvosa ou seca) existiam dois grupos de animais, um deles recebia dieta balanceada por meio da adição de suplementação para a correções das exigências nutricionais, sendo que os níveis de proteína e a energia foram calculados de acordo com a produção de leite, categoria e dias de lactação (NRC, 2001); e o outro grupo não recebia suplementação (Tabela 3).

Tabela 3 - Composição química final da dieta dos animais em condições de suplementação ou não, dentro de duas estações do ano (chuvosa e seca).

Variáveis	Chuvvas		Seca	
	Suplementado	Não suplementado	Suplementado	Não suplementado
MS (%MS)	44,4	27,0	49,9	34,5
Cin (%MS)	6,3	3,0	6,0	2,5
FDN (%MS)	55,6	68,5	59,6	74,0
FDA (%MS)	39,3	50,5	42,9	55,5
EE (%MS)	2,1	2,0	2,0	1,9
PB (%MS)	17,3	11,5	13,7	7,5
NDT (%MS)	62,3	52,5	57,3	45,5
ED (Kcal)	57,7	44,8	39,1	33,8

De posse das informações do teor nutricional e do consumo, foi possível estimar o consumo de matéria seca por peso vivo do animal em cada estação, bem como o consumo e concentrado, de proteína bruta e de nutrientes digestíveis totais (Tabela 4).

Tabela 4 - Consumo de matéria seca (CMS) total e do concentrado em relação ao peso vivo, consumo de proteína bruta (PB) e de nutrientes digestíveis totais (NDT) durante o período experimental.

Variáveis	Chuvvas		Seca	
	Suplementados	Não suplementados	Suplementados	Não suplementados
CMS total (% PV)	2,66	2,48	2,59	2,41
CMS concentrado (% PV)	0,65	0	0,42	0
Consumo de PB (Kg/dia)	1,97	1,78	1,56	1,25
Consumo de NDT (kg/dia)	13,1	10,18	8,85	7,68

A temperatura intravaginal (TI) dos animais experimentais foram aferidas por termômetros data logger (Termocrom TC Basi c- logger) acoplados a dispositivos intravaginais inertes (Vickrs et al., 2010). Os parâmetros climáticos: temperatura do ar (TA, °C), velocidade do vento, umidade relativa do ar (UR, %), radiação solar (R, KJ/m²) e temperatura de ponto de orvalho (TPo, °C) foram coletadas diariamente, a cada hora, durante os períodos do experimento, por meio da estação meteorológica do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia), localizada a 500 m do campo experimental da Embrapa de Porto Velho-RO. A partir desses dados calculou-se o índice de temperatura e umidade, cuja equação foi proposta por Thom (1959): $ITU = TA + 0,36 \times TPo + 41,2$, onde: ITU= Índice de temperatura e umidade, adimensional; TA= temperatura do ar, em °C; e TPo = temperatura de ponto de orvalho, em °C.

Quando os animais estavam na ordenha, era considerado o valor do globo de dentro da ordenha, que durava em média 2 horas por dia, sendo 1 hora de manhã e 1 hora de tarde. Por intermédio desse dado, foi possível calcular o índice de temperatura de globo e umidade, conforme a equação apresentada por Buffington et al., (1981): $ITGU = Tgn + 0,36 TPo + 41,5$, onde: ITGU - índice de temperatura de globo e umidade (adimensional), Tgn - temperatura do globo negro, °C, TPo – temperatura ponto de orvalho.

A frequência respiratória foi estimada pela equação descrita por Eigenberg et al. (2007) para regiões com temperatura do ar acima de 25 °C: $FRE = (5,1 \times TA) + (0,58 \times UR) - (1,7 \times V) + (0,039 \times R) - 105,7$ onde: FRE = frequência respiratória estimada, em movimentos por minuto, TA = temperatura do ar, em °C, UR = umidade relativa do ar, em %, V = velocidade do vento, em metros por segundo, e R = radiação solar.

Na análise dos dados, observa-se que houve diferença entre as médias do ITGU, sendo que o período de seca obteve maior resultado, em relação à época chuvosa (Tabela 5). Para os valores de ITU não houve diferença entre as estações avaliadas, porém os valores foram acima de 72, caracterizando ambiente estressante nas duas épocas do ano.

Tabela 5 - Média do ITGU e ITU em relação as diferentes estações do ano, durante o período experimental.

Estação do ano	Média ITGU	Erro-Padrão	Média ITU	Erro-Padrão
Chuvosa	82,0 B	0,53	76,5	0,35
Seca	89,5 A	0,52	76,9	0,42

Letras diferentes representam diferença entre os tratamentos dentro do efeito ($P < 0,01$).

De acordo com Baêta e Souza (2010), os valores de ITGU demonstram que os animais estão fora da zona de conforto nas estações seca e chuvosa, por mais que ambos tiveram diferença, colocando o período da seca como a estação de maior estresse térmico e com riscos a homeostase do animal. A Figura 2 mostra os resultados de ITGU e ITU ao longo dos períodos diurno e noturno, nas estações chuvosa e seca do período experimental.

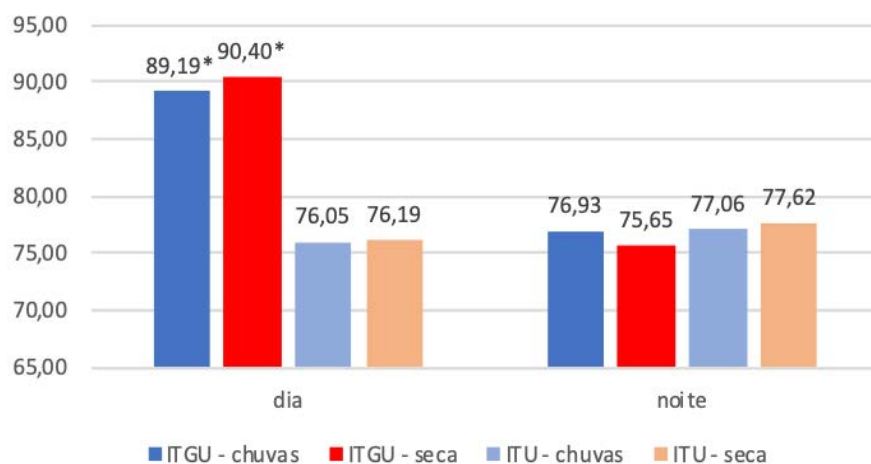


Figura 2 - Média do ITGU e do ITU avaliadas durante o dia e noite em diferentes períodos do ano, durante o período experimental. * $P < 0,05$.

Durante o dia, os resultados ultrapassam o limite considerado perigoso para a saúde do animal, podendo alterar a homeostase dos animais e levando a queda na produção e no desempenho reprodutivo dos animais. O ITGU é um indicador climático que considera os fatores ambientais de temperatura, umidade, radiação direta e a movimentação de ar do local (Baêta; Souza, 2010),

enquanto o ITU apenas pondera a temperatura e umidade, por isso possui algumas limitações, porém mundialmente usado nos trabalhos de reprodução animal (Zimbelman et al., 2009).

Os parâmetros climáticos são importantes na avaliação dos animais, pois existe um balanço entre os mecanismos de produção e perda de calor para que a temperatura corporal permaneça constante. Quando os receptores detectam variações no clima, os mecanismos fisiológicos e comportamentais são acionados para manter a homeotermia (Barros et al., 2010). Logo, o estresse térmico provoca diminuição do desempenho com inferências negativas na fertilidade em vacas leiteiras (Lew et al., 2006). Baêta e Souza (2010) afirma que valores acima de 84 de ITGU significa que os animais estão sob condições de estresse calórico severo, acarretando prejuízo no rendimento reprodutivo dos animais e Ingraham et al. (1974) consideram que valores acima de 72 para o ITU já sinalizam estresse por calor para vacas leiteiras.

A frequência respiratória estimada (FRE) foi ilustrada na Figura 3 em cada estação (chuvosa e seca), durante experimento. Os dados de FRE estão de acordo com Eigenberg et al. (2007), pois para valores de ITU acima de 74, os animais podem ter valores de FR acima de 90 mov./min. Stober (1993) afirma que a FR normal em bovinos adultos está entre 24 a 36 mov/min, e em condições de estresse térmico, os valores aumentam mais rápido que a temperatura corporal. Comparando os valores de ITGU encontrados por Carvalho et al. (2018), os valores de ITGU foram aproximados aos relatados pela autora citada, mostrando que os animais estão sob estresse térmico em Porto Velho – RO.

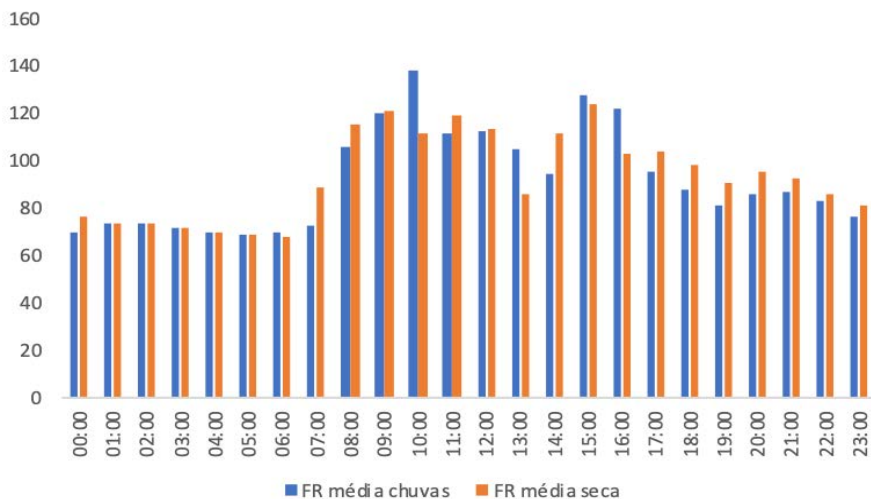


Figura 3 - Frequência respiratória estimada (FRE) em mov./min de vacas no período seco e período chuvoso em Porto Velho (RO).

Os dados coincidem com Moraes et al. (2008) em relação ao valor elevado da FR em animais da raça Holandês, variando no cruzamento entre diferentes graus sanguíneos (3/4 e 31/32). Ferreira et al. (2006) encontrou FR acima de 120 mov./min. em 39 machos e 32 fêmeas ½ Gir x ½ Holandês, pois o ITU encontrava-se em 97. Moraes et al. (2008) explica que nas situações de alto ITGU e ITU, os animais começam a acionar a demanda de energia para utilizar a termólise evaporativa, com vistas a manter a homeotermia nos horários mais críticos.

A análise de correção de Pearson para as variáveis climáticas ITGU, ITU, R e FRE estão apresentados na Tabela 6. O comportamento dos fatores ITU, R e FRE em relação ao ITGU, na estação chuvosa (dia e noite) e estação seca (dia), teve correlação positiva pela análise de Pearson, demonstrando que a elevação do ITGU tem relação moderada com os aumentos das demais variáveis supracitadas. Além disso, observa-se correlação negativa do ITGU com a FRE no período da noite da estação seca.

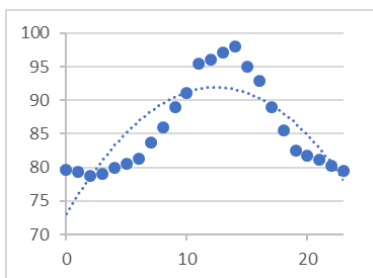
Tabela 6 - Interação do ITGU com o ITU, R e FRE na estação chuvosa e seca, em diferentes turnos (dia e noite).

Estação	Período do dia	Variáveis	Correlação	Observações	
Chuvvas	Dia	ITU	0,39**	935	
		ITGU	R	0,44*	935
			FR	0,49**	935
	Noite	ITU	0,40**	935	
		ITGU	R	-	-
			FR	0,18*	935
Seca	Dia	ITU	0,50**	935	
		ITGU	R	0,29**	935
			FR	0,42**	935
	Noite	ITU	0,03	935	
		ITGU	R	-	-
			FR	-0,18**	935

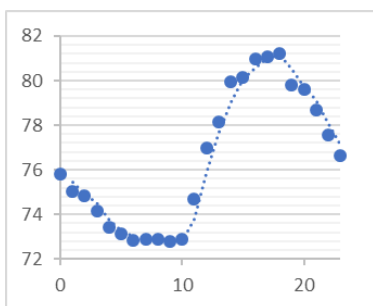
* P<0,05. ** P<0,0001.

Foram também avaliadas as equações de regressão quadrática (Tabela 7) e os gráficos de regressão dos quatro índices, nas diferentes estações do ano e turno (Figura 4). As equações apresentaram coeficiente de determinação elevado, acima de 90% ($r^2=0,90$) para grande parte das variáveis, demonstrando que os valores expressos nas equações se aproximam dos previstos para as estações do ano.

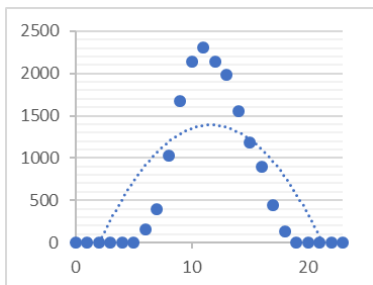
A)



B)



C)



D)

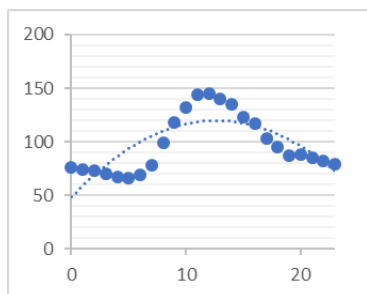


Figura 4- Gráficos de dispersão de ITGU (A), ITU (B), radiação solar (C) e FRE (D) de acordo com as horas do dia.

Tabela 7 - Equações de regressão para estimar valores das variáveis de conforto térmico ITGU, com o ITU, R e FRE de acordo com a estação (chuvosa e seca), em diferentes turnos (dia e noite).

Estação	Período do dia	Variável	Equação	R ²
Chuvvas	Dia	ITGU	$y = -0,3732x^2 + 9,2053x + 36,491$	0,95
		ITU	$y = 0,0017x^2 + 0,7659x + 66,992$	0,94
		FR	$y = -2,3841x^2 + 58,952x - 211,65$	0,94
		R	$y = -60,785x^2 + 1455,7x - 6715,6$	0,93
	Noite	ITGU	$y = -0,054x^2 + 1,3566x + 72,461$	0,91
		ITU	$y = -0,0125x^2 + 0,5299x + 73,872$	0,6
		FR	$y = -0,046x^2 + 1,9201x + 68,383$	0,58
		R	-	-
Seco	Dia	ITGU	$y = -0,328x^2 + 8,8174x + 38,784$	0,91
		ITU	$y = 0,0714x^2 - 0,6234x + 73,419$	0,91
		FR	$y = -1,6719x^2 + 41,584x - 123,6$	0,96
		R	$y = -69,531x^2 + 1600,7x - 7008,7$	0,93
	Noite	ITGU	$y = -0,0195x^2 + 0,552x + 81,209$	0,35
		ITU	$y = -0,0042x^2 + 0,2783x + 73,419$	0,62
		FR	$y = 0,0157x^2 + 0,0769x + 70,984$	0,51
		R	-	-

Vários trabalhos correlacionam o ITGU com o ITU de maneira positiva, em diferentes partes do mundo, mas, embora observada uma correlação moderada, todos os estudos ressaltam que o ITGU continua sendo o melhor índice para avaliar o conforto térmico dos animais a pasto (Azevedo et

al., 2005; Silva et al., 2007; Aggarwal; Avila et al., 2013; Upadhyay, 2013). O fato de o ITGU considerar diretamente o efeito da radiação sobre os corpos garante credibilidade nas informações referentes ao conforto animal, em comparação ao ITU (Zimbelman et al., 2009).

O globo negro, mesmo sendo uma ferramenta amplamente utilizada como artifício para simular o efeito da radiação solar sobre os animais, não deve ser considerado como um instrumento com acurácia elevada. Pois, a temperatura do globo sugere que, dentro das condições do globo, como o material empregado, as temperaturas resultantes seriam as apresentadas, mas vale ressaltar que os corpos dos animais apresentam formas, tamanho e estruturas que afetam diretamente a relação com a radiação solar (Silva et al., 2007).

A estimativa do valor de ITGU, ITU, FRE e R dentro das condições das estações chuvosa e seca, por meio das equações de regressão, demonstram alto coeficiente de determinação, o que sugere que os dados possuem comportamento semelhante dentro do período experimental, nas duas estações. Logo, presume-se que esses índices podem apresentar uma padronização durante o ano, haja vista que os dados foram sequenciais durante o ano do experimento.

A baixa correlação dos índices a noite, no período chuvoso e no período seco, resulta em correlação negativa com a FRE, contudo essa constatação carece de fundamentação da literatura. A hipótese mais provável é que esse fenômeno esteja correlacionado com mecanismos de adaptação a forma aguda do estresse, a qual os animais são submetidos durante o período diurno. Nesse sentido, como forma de avaliação desses mecanismos adaptativos, foi avaliada a temperatura intravaginal dos animais durante o período experimental (Figura 5).

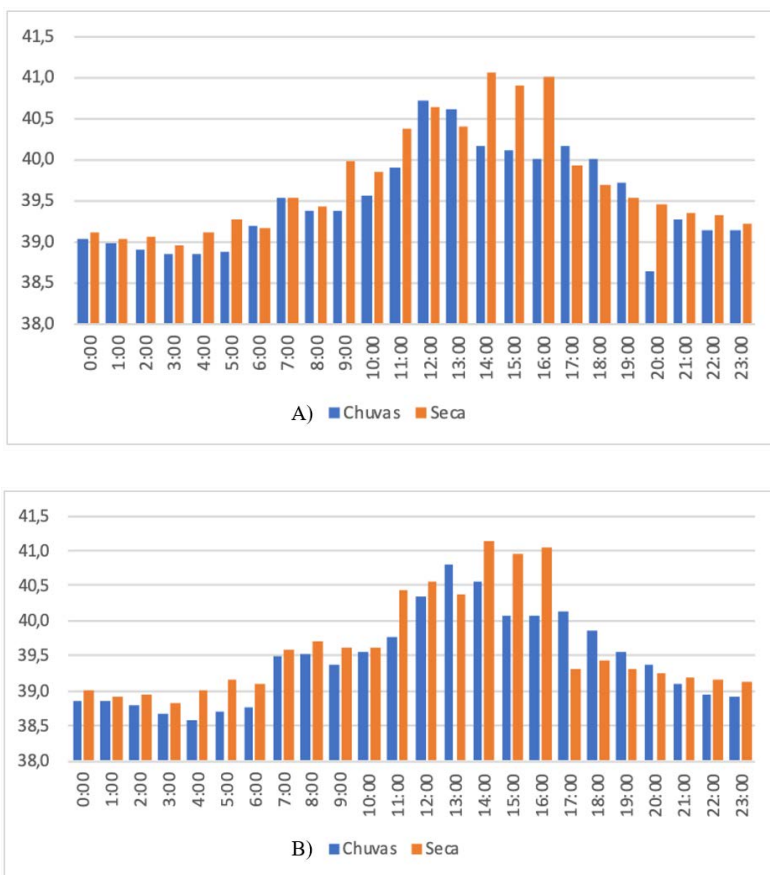


Figura 5 - Temperatura Intravaginal (TI) dos animais suplementados, no período chuvoso e seco (A) e temperatura não suplementados no período chuvoso e seco (B).

Os bovinos acionam mecanismos para enfrentar o estresse térmico que envolve mudanças no comportamento e alteração nos parâmetros fisiológicos, a fim de monitorar a perda de calor corporal, evitando a hipertermia (Ferreira et al., 2006). As variáveis de temperatura intravaginal do animal, assim como as concentrações plasmáticas de T3, T4, Cortisol e Corpos Cetônicos estão na Tabela 8. Não houve interação entre os fatores para os dados coletados. A TI não teve diferença em relação a suplementação, mas apresentou diferença na estação do ano, com média acima na época seca.

Os níveis de T3 diferiram apenas em relação a suplementação oferecida durante o experimento, onde os níveis mais altos foram para aqueles que não

receberam concentrado. Os dados de cortisol apresentaram tendência ($0,1 < \text{valor de } p < 0,05$), o que sugere a necessidade de mais trabalhos científicos a respeito dessa variável e os tratamentos escolhidos. Para T4 e corpos cetônicos, não houve diferença significativa nos fatores suplementação e estação do ano.

Tabela 8 - Temperatura intravaginal (TI) e as concentrações plasmáticas de T3, T4, Cortisol e Corpos Cetônicos durante o período experimental.

Item	Estação		Suplementação		P valor		
	Chuvas	Seca	Sim	Não	Estação	Supl.	Interação
T.I. (°C)	39,1 B (0,07)	39,7 A (0,12)	39,3 (0,11)	39,4 (0,11)	0,01	0,44	0,46
T3 (ng/mL)	0,5 (0,07)	0,5 (0,06)	0,5 B (0,05)	0,6 A (0,07)	0,55	0,02	0,81
T4 (ng/mL)	10,8 (2,53)	11,9 (3,24)	10,4 (3,14)	12,2 (2,42)	0,47	0,23	0,89
Cortisol (ng/mL)	4,3* (3,68)	8,0* (4,71)	5,7 (3,95)	6,8 (4,85)	0,10	0,56	0,50
Corpos cetônicos (mmol/dL)	0,8 (0,05)	0,9 (0,10)	0,9 (0,10)	0,9 (0,08)	0,96	0,29	0,65

Valores designados com letras diferenciam estatisticamente entre as linhas ($P < 0,05$), valores com * são considerados tendência ($0,05 < P < 0,10$). Valores entre parênteses correspondem ao erro padrão da média do tratamento.

Os valores considerados normais para a homeostase dos ruminantes com aptidão leiteira variam de 38 °C a 39,5 °C. No período da seca, a temperatura interna teve aumento em relação ao período e não em relação à suplementação. Em concordância com os valores de ITGU, observa-se incremento da TI entre os períodos de chuva e seca, com maiores resultados no período da seca, resultado considerado perigoso para os animais com aptidão leiteira (Baêta; Souza, 2010).

Contudo, Cardoso et al. (2015) detectaram temperaturas atingindo patamares de 41 °C como nesse trabalho, concluindo uma adaptação fisiológica de animais Girolando em território nacional. Os pesquisadores verificaram que essas adaptações afetam a fisiologia desses animais, especialmente a

quantidade de hemoglobinas, a qual tem relação com a eficiência do transporte de oxigênio aos tecidos. Em adição, a genética zebuína permite que os animais tenham outros mecanismos para suportar o estresse térmico, como a diminuição do metabolismo e aumento da pressão sanguínea, como formas de dissipar o calor, não sendo possível detectar facilmente (Hansen, 2004).

Façaanha et al. (2017) relataram que apesar do mecanismo de dissipação de calor dos zebuínos ser uma forma eficiente para a adaptação a diversos ambientes, a consequência desse mecanismo é que todo o eixo-hipotalâmico-hipofisário é acionado e o sistema imune dos animais é afetado, aumentando a susceptibilidade dos animais à patógenos. O presente trabalho também detectou variações na produção de T3 em animais com menor adaptação aos ambientes de estresse térmico.

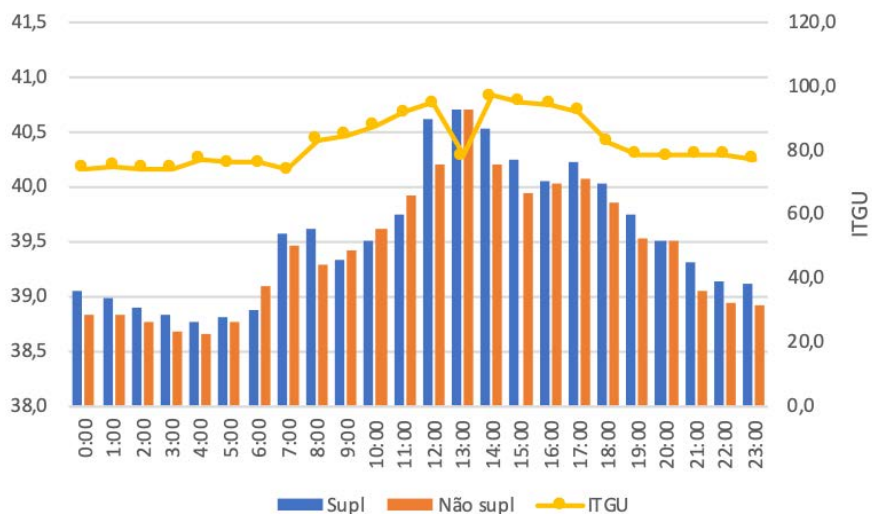
Morais et al. (2008) analisaram resultados de T3 e T4 em situações de alto estresse calórico (ITGU>87) e os valores de T3 encontrados foram, na média, de 1,05 ng/mL. Para os autores é justificável, pois o T3 é responsável pela termogênese obrigatória, e os fatores climáticos podem regular a sua produção. O aparelho neuroendócrino é influenciado pelos fatores climáticos e os hormônios da tireoide T4 e T3, exercem importante papel na adaptação do animal à condição ambiental (Dukes, 1996).

Em condições de baixas temperaturas, a termogênese é necessária para manter os animais aquecidos. Nessa situação, para o animal sintetizar calor, por exemplo, o hipotálamo estimulará a atividade da hipófise, que por sua vez, secretará o hormônio tireotrófico (TSH), impulsionando a tireoide a liberar tiroxina. A tiroxina ativa o metabolismo celular, por meio da formação de triiodotironina, estimulando o metabolismo basal a produzir calor. Para as condições desse experimento, espera-se que a produção de T3 e T4 fossem menores, mas a concentração de T4 foi elevada em relação ao encontrado na literatura. Para Costa et al. (2015) e Vasconcelos et al. (2020) a proporção normal de T4 e T3 é de 1:1 em condições de clima temperado, a maior concentração de T4 livre significa que parte desse T4 não está sendo metabolizado nos tecidos, e isso denota uma característica adaptativa dos animais para a não produção de calor.

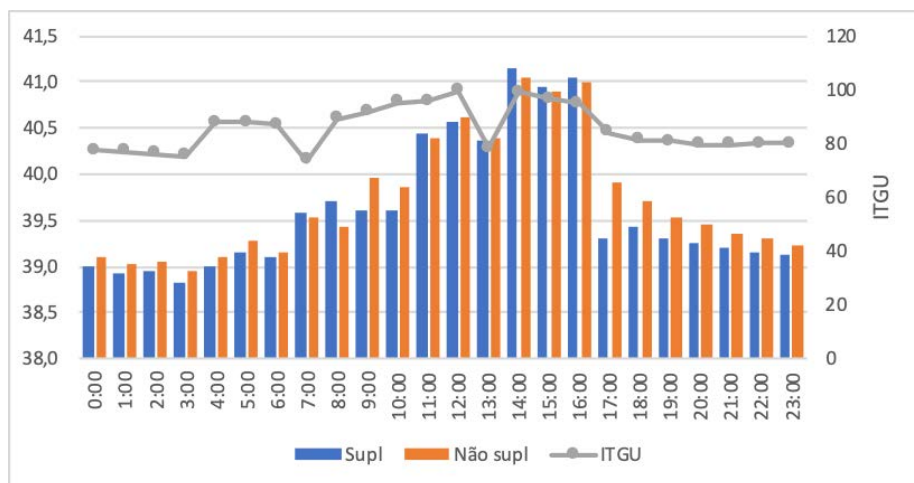
Em termos de secreção de cortisol, observa-se que no período da seca ocorrem maiores concentrações sanguíneas, quando comparado com a estação de chuvas, o qual acompanha e o aumento da TI e do ITGU (Tabela 8). Esse hormônio é reconhecido como principal indicador estresse (Lucy, 2019; Randall, 2010; Souza; Batista, 2012) e tem efeito gliconeogênico. Sendo que, Lucy (2019) relata que o cortisol pode diminuir a capacidade de resposta dos folículos ovarianos ao LH.

Contudo, em situações de menor intensidade ou curta exposição, os níveis de cortisol aumentam, porém com a longa exposição aos fatores estressantes, esses níveis podem diminuir, por conta da adaptação. Logo, a redução pode ocorrer como mecanismo benéfico para a diminuição da produção de calor pelos animais (Christinson; Johnson, 1972; Arcaro Junior et al., 2003). No presente experimento, esperou-se que os níveis de cortisol estivessem mais altos, em virtude dos elevados valores do ITGU, porém vale ressaltar que os animais estavam expostos, há pelo menos 1 ano na mesma condição, tempo suficiente para estarem adaptados.

Na avaliação de distúrbios metabólicos, sabe-se que os ruminantes têm predisposição a valores mais altos de corpos cetônicos que espécies não ruminantes, por conta dos produtos decorrentes da fermentação ruminal (Bonato et al., 2015). O mesmo autor considera que em condições ambientais normais, os valores devem estar abaixo de 3 mg/dL. Todos os animais do experimento estiveram dentro desses valores. Os resultados da TI e o ITGU, por estação do ano (chuvoso e seco) e com ou sem uso de suplementação, estão descritos na Figura 6.



A)



B)

Figura 6 - Temperatura intravaginal de animais suplementados e não suplementados no período chuvoso, com ITGU (A) e temperatura intravaginal de animais suplementados e não suplementados no período seco, com ITGU (B).

A TI aumenta em concordância com os valores de ITGU nas estações chuvosa e seca (Figura 6 A e B), para os animais que receberam ou não suplementação, com exceção do período das 07:00 h e 13:00 h (horário da ordenha), no qual ocorre decréscimo no ITGU. Porém, a TI eleva-se a valores acima do intervalo considerado dentro da homeotermia (38 °C a 39,5 °C). A hipertermia pode acontecer em situações de aumento do incremento calórico provocado por uma alimentação de difícil digestão, como é o caso do volumoso e até mesmo como afirma Wilson et al. (1998), na qual a produção de leite influencia na elevação da temperatura corporal.

Em comparação ao comportamento dos gráficos A e B, observa-se que no período da seca, os animais que não foram suplementados tiveram picos de TI bem mais elevados e prolongados que no período chuvoso. Dessa maneira, o fornecimento de dieta com maior qualidade de nutrientes torna-se necessária para que a produção de leite e reprodução não tenha declínios abruptos (Pimentel et al., 2007). Visto que, existe uma relação linear decrescente dos teores de fibra indigestível em detergente ácido com o incremento calórico, devido aos processos envolvidos na fermentação de dietas contendo maior proporção de fibra (Azevêdo; Alves, 2009). Para Nãas (1989), a variação do TI é explicada por conta do acúmulo do calor no organismo animal que está exposto aos fatores ambientais, assim como de sua incapacidade de eliminar o excedente de maneira rápida.

Os dados de duração da ovulação, taxa de ovulação e do diâmetro do folículo dominante (POF) estão na Tabela 9. Não houve interação entre esses fatores para a variável hora da ovulação e POF. Entretanto, com relação às estações do ano, houve diferença no tempo de ovulação, na qual o período da seca, os animais levaram mais tempo que no período chuvoso. A suplementação alimentar não influenciou no tempo de ovulação.

Tabela 9 - Duração da ovulação, taxa de ovulação e do diâmetro do folículo dominante (POF) em vacas leiteiras sob diferentes estações (chuvas e seca) e suplementação (suplementação com concentrado ou não) e correlação entre os valores.

Item	Estação		Suplementação		P valor		
	Chuvas	Seca	Sim	Não	Estação	Supl.	Inte- ração
Hora da ovu- lação (h)	51,3B (2,69)	65,0A (3,71)	56,6 (3,71)	62,21 (3,78)	<0,01	0,41	0,63
POF (mm)	12,9 (0,50)	12,9 (0,30)	13,8A (0,46)	12,1 B (0,27)	0,82	<0,01	0,14

Valores designados com letras diferenciam estatisticamente entre as linhas ($P < 0,01$), valores com * são considerados tendência ($0,05 < P < 0,10$); Valores entre parênteses correspondem ao erro padrão da média do tratamento; Valores referentes ao teste de correlação chi-quadrado.

Segundo Pfeifer et al. (2007), que avaliaram 93 vacas na região Amazônica, identificaram que os folículos com maior diâmetro apresentaram menor hora de ovulação. No presente trabalho, considerando que houve uma separação entre as estações do ano e suplementação, percebe-se que os animais não apresentaram mesmo comportamento, pois o diâmetro folicular e a ovulação são influenciados pela época do ano e pelo aporte nutricional.

Nesse contexto, a estação seca teve resultado elevado para ocorrer a ovulação (65 horas), em comparação com a estação chuvosa (51 horas). Contudo não diferiu com o tamanho do folículo dominante, pois independente da estação do ano, o tamanho foi de, aproximadamente, 13mm. A duração foi menor na estação chuvosa, com média de 51,3 horas.

Segundo Wilson et al. (1998), vacas que são submetidas ao estresse térmico tendem a ovular mais tardiamente. Segundo esses autores, a cada 3,3 °C acima da temperatura de conforto térmico dos animais, ocorre aumento de 1 dia para ovulação, em climas temperados. Visto que, a prevalência do folículo dominante, em animais sob estresse térmico, tende a encerrar o crescimento a partir do 17º dia do ciclo estral, mantendo ou até diminuindo seu diâmetro.

Outros trabalhos também revelaram comportamento semelhante ao citado acima, indicando que as concentrações de estradiol podem diminuir

sensivelmente no período de dominância folicular em animais com estresse térmico (Gwazdauskas et al., 1981), sendo que os teores de FSH não costumam variar em animais nessas condições (Gutiérrez et al., 1997). Uma vez que, são reportadas concentrações de estradiol similares (Roman-Ponce et al., 1981) ou até menores (Rosenberg et al., 1982) de estradiol na literatura, para animais sob estresse térmico. Os mecanismos exatos para decréscimo nos níveis de estradiol no sangue, em animais sob condições de estresse pelo calor, ainda são desconhecidos, mas Wilson et al. (1998) sugerem que esses mecanismos tendem a diferir em animais com condições genéticas diferentes. Visto que, eles possuem mecanismos distintos para dissipação do calor, além disso pode ter os efeitos externos agindo, como a nutrição.

Webb et al. (2004) afirmam que dietas com indução da circulação de alta ou baixa concentração de insulina influenciam na velocidade de ocorrência da ovulação em fêmeas bovinas. Nesse sentido, observa-se que no período chuvoso, estação conhecida por ter qualidade nutricional no pasto (Souza et al., 2012), ocorrem maior sintetização de insulina no organismo do animal, visto que nessa estação as plantas apresentam maior quantidade de carboidratos solúveis, importantes para a indução de hormônio (Webb et al., 2004). Logo, alterações na dieta é um dos fatores extrínsecos que podem provocar mudanças no momento, duração e intensidade do estro em ruminantes (Sartori; Guardieiro, 2010).

De acordo com O'Callaghan e Boland (1999) a exigência de energia para variáveis como ovulação e crescimento folicular é menor (menos que 3 MJ de energia metabolizável por dia) que a exigência para a manutenção e produção das vacas leiteiras (60 a 250 MJ de energia metabolizável por dia). Na variável POF, houve diferença para o efeito da suplementação, sendo que os animais que receberam suplementação tiveram diâmetro folicular maior (13,80 mm), em relação aos animais que não foram suplementados (12,09 mm). Na presente pesquisa, também se encontrou que o desenvolvimento de oócitos ocorre de forma adequada em animais com a nutrição equilibrada (Bergfeld et al., 1994; Rhodes et al., 1994; Mackey et al., 1999; Bossis et al., 2000; Armstrong et al., 2001).

Artunduanaga et al. (2010) observaram aumento no diâmetro folicular de vacas primíparas da raça Holandês suplementadas com sais de cálcio e ácidos graxos da soja, os diâmetros apresentados foram semelhantes aos encontrados no presente trabalho. Ribeiro Filho et al. (2013) verificaram resultados positivos na taxa de concepção de fêmeas com folículos com diâmetro de $13,33 \pm 2,40$ mm, em relação das vacas não gestantes que alcançaram $11,27 \pm 2,75$ mm. No presente trabalho, as fêmeas que apresentaram esse tipo de diâmetro (>13 mm) estavam no grupo que receberam suplementação.

Em síntese, na região Amazônica, os dados de ITU, ITGU e FRE sugerem estresse térmico severo na época seca e chuvosa para os animais, mas o valor de ITGU foi maior no período seco. Logo, nesse período a TI foi maior, o que sugere que os animais têm maior estresse térmico nessa época do ano, com menor capacidade de dissipação do calor. Já os animais suplementados apresentaram menores valores de T3 em relação aos não suplementados e os valores de T4 se mantiveram elevados no decorrer do ano, não diferindo entre os animais suplementados ou não. Por fim, a suplementação influenciou no diâmetro folicular, mas não interferiu na hora da ovulação, sendo que esta última variável foi menor no período chuvoso, apresentando média de 53 horas após a aplicação do benzoato de estradiol, em relação às 65 horas no período seco.

Referências

IDARON. Agência de Defesa Sanitária Agrossilvipastoril de Rondônia. **Relatórios de Campanhas de Vacinação 2007 a 2018**. Online. Disponível em: <<http://www.idaron.ro.gov.br/Portal/svArquivos.aspx>> Acesso em: 20 mai. 2019.

AGGARWAL, A.; UPADHYAY, R. **Heat stress and animal productivity**. [s.l.] Springer, 2013.

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.

ARCARO JUNIOR, I.; ARCARO, J. R. P.; POZZI, C. R.; FAGUNDES, H.; MATARAZZO, S. V.; OLIVEIRA, C. A. Teores plasmáticos de hormônios, produção e composição do leite em sala de espera climatizada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, n. 2, p. 350–354, 2003.

ARMSTRONG, D. G.; MCEVOY, T. G.; BAXTER, G.; ROBINSON, J. J.; HOGG, C. O.; WOAD, K. J.; WEBB, R.; SINCLAIR, K. D. Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: Associations with the ovarian insulin-like growth factor system. **Biology of Reproduction**, v. 64, n. 6, p. 1624–1632, 2001.

ARTUNDUAGA, M. A. T.; COELHO, S. G.; BORGES, A. M.; LANA, A. M. Q.; REIS, R. B.; CAMPOS, B. G.; SATURNINO, H. M.; SÁ FORTES, R. V.; COSTA, H. N. First follicular wave and first postpartum ovulation of primiparous Holstein dairy cows receiving diets with different energetic sources during the transition period. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 1, p. 116–123, 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL – ASBIA. **Index ASBIA 2017**. Disponível em: <<http://www.asbia.com.br/index>>. Acesso em: 02 jun. 2019.

AVILA, A. S.; JÁCOME, I. M. T. D.; FACCENDA, A.; PANAZZOLO, D. M.; MÜLLER, E. R. Avaliação e Correlação de parâmetros fisiológicos e índices bioclimáticos de vacas Holandês em diferentes estações. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 14, n. 14, p. 2878–2884, 2013.

AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; DEMÉTRIO, C. G. B.; LIMA, C. G.; BARUSELLI, P. S. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. **Livestock Science**, v. 123, n. 2-3, p. 175–179, 2009.

AZEVEDO, D. M. M. R.; ALVES, A. A. Bioclimatologia Aplicada à Bovinocultura Leiteira. **Embrapa**, p. 83, 2009.

AZEVEDO, M.; PIRES, M. F. A.; SATURNINO, H. M.; LANA, A. M. Q.; SAMPAIO, I. B. M.; MONTEIRO, J. B. N.; MORATO, L. E. Estimativa de níveis críticos superiores do índice de temperatura e umidade para vacas leiteiras $1/2$, $3/4$ e $7/8$ Holandês-Zebu em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2000–2008, 2005.

BADINGA, L.; THATCHER, W. W.; DIAZ, T.; DROST, M.; WOLFENSON, D. Effect of Environmental Heat Stress on Follicular Development and Steroidogenesis in Lactating Holstein Cows. **Theriogenology**, v. 39, p. 797–810, 1993.

BAÊTA, F. C.; SOUZA, C. F. **Ambiência em edificações rurais**. 2. ed. Viçosa - MG: UFV, 2010.

BARROS, P. C.; OLIVEIRA, V.; CHAMBÓ, E. D.; SOUZA, L. C. Aspectos práticos da termorregulação em suínos. **Nutritime**, v. 7, n. 3, p. 1248–1253, 2010.

BARUSELLI, P. S. **Avaliação do mercado de IATF no Brasil**. Boletim Eletrônico do Departamento de Reprodução Animal/FMVZ/USP, 1. ed., 2019.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.205–211, 2007.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; MADUREIRA, E. H.; CAMPOS FILHO, E. P. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 26, p. 218–221, 2002.

BARUSELLI, P. S.; SALES, J. N. S.; VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**, v.9, p.139–152, 2012.

BERGFELD, E. G. M.; KOJIMA, F. N.; CUPP, A. S.; WEHRMAN, M. E.; PETERS, K. E.; GARCIA-WINDER, M.; KINDER, J. E. Ovarian follicular development in prepubertal heifers is influenced by level of dietary energy intake. **Biology of Reproduction**, v. 51, n. 5, p. 1051–1057, 1994.

BESBACI, M.; ABDELLI, A.; BELABDI, I.; BENABDELAZIZ, A.; KHELILI, R.; MEBARKI, M.; KAIDI, R. Effects of GnRH or hCG on day 11 after artificial insemination in cows luteal activity. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v. 69, n. 4, 2018.

BILEGO, U. O.; BILEGO, U. O.; SANTOS, F. C.; PORTO, R. N. G.; PIRES, B. C.; OLIVEIRA FILHO, B. D.; VIU, M. A. O.; GAMBARINI, M. L. Ovarian evaluation of Girolando (Holstein × Gir) heifers submitted to a GnRH-PGF2 α -GnRH protocol in the dry or rainy seasons in the tropical savannah. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, n. 7, p. 1461–1467, 2013.

BONATO, D. V.; VRISMAN, D. P.; TAIRA, A. R.; GHIZZU, L. G.; UENO, R. K.; NEUMANN, M.; TEIXEIRA, P. P. M.; CRIVELLENTI, S. B. Cetose em vacas leiteiras de alta produção. **Revista Investigação**, v. 14, n. 6, p. 96–101, 2015.

BOSSIS, I.; WETTEMANN, R. P.; WELTY, S. D.; VIZCARRA, J.; SPICER, L. J. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: Ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. **Biology of Reproduction**, v. 62, n. 5, p. 1436–1444, 2000.

BUFFINGTON, D. E.; COLLAZO-AROCHO, A.; CANTON, G. H.; PITT, D. Black globe humidity index (BGHI) as a comfort equation for dairy cows. **Transactions of the ASAE [American Society of Agricultural Engineers] (USA)**, v. 24, p. 711–714, 1981.

CARDOSO, C. C.; PERIPOLLI, V.; AMADOR, S. A.; BRANDÃO, E. G.; ESTEVES, G. I. F.; SOUSA, C. M. Z.; FRANÇA, M. F. M. S.; GONÇALVES, F. G.; BARBOSA, F. A.; MONTALVÃO T. C.; MARTINS, C. F.; FONSECA NETO, A. M.; MCMANUS, C. Physiological and ther-

mographic response to heat stress in zebu cattle. **Livestock Science**, v. 182, p. 83–92, 2015.

CARVALHO, G. A.; SALMAN, A. K. D.; CRUZ, P. G.; SILVA, F. R. F.; HALFEN, J.; SCHMITT, E. Relationship between thermal comfort indices and internal temperature of grazing lactating holstein × gyr cows in western Amazonia. **Acta Amazonica**, v. 48, n. 3, p. 191–196, 2018.

CHENAULT, J. R.; THATCHER, W. W.; KALRA, P. S.; ABRAMS, R. M.; WILCOX, C. J. Transitory changes in plasma progestins, estradiol, and luteinizing hormone approaching ovulation in the bovine. **Journal of dairy science**, v. 58, n. 5, p. 709–717, 1975.

CHRISTINSON, G. I.; JOHNSON, H. D. Cortisol Turnover in Heat-Stressed Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 35, n. 5, p. 1005–1010, 1972.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, v. 60, n. 5, p. 855–865, 2003.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MARTÍNEZ, M. F.; WHITTAKER, P. R.; WILDE, R.; AMBROSE, J. D.; CORBETT, R.; MAPLETOFT, R. J. Fertility following fixed-time AI in CIDR-treated beef heifers given GnRH or estradiol cypionate and fed diets supplemented with flax seed or sunflower seed. **Theriogenology**, v. 61, n. 6, p. 1115–1124, 2004.

COSTA, A. N. L.; FEITOSA, J. V.; MONTEZUMA JÚNIOR, P. A.; SOUZA, P. T.; ARAÚJO, A. A. Hormonal profiles, physiological parameters, and productive and reproductive performances of Girolando cows in the state of Ceará-Brazil. **International Journal of Biometeorology**, v. 59, n. 2, p. 231–236, 2015.

DE RENSIS, F.; LOPEZ-GATIUS, F.; GARCÍA-ISPIERTO, I.; MORINI, G.; SCARAMUZZI, R. J. Causes of declining fertility in dairy cows during the warm season. **Theriogenology**, v. 91, p. 145–153, 2017.

DE RENSIS, F.; MARCONI, P.; CAPELLI, T.; GATTI, F.; FACCIOLONGO, F.; FRANZINI, S.; SCARAMUZZI, R. Fertility in postpartum dairy cows in winter or summer following estrus synchronization and fixed time AI after the induction of an LH surge with GnRH or hCG. **Theriogenology**, v. 58, n. 9, p. 1675–87, dez. 2002.

DE RENSIS, F.; SCARAMUZZI, R. J. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow—a review. **Theriogenology**, v. 60, n. 6, p. 1139–1151, 2003.

DE ZEN, S.; BARROS, G. S. C. Evolução do mercado brasileiro da carne bovina. In PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte** / Alexandre Vaz Pires. - - Piracicaba: FEALQ, 2010. V II, 760 p.

DUKES, H. H. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1996.

EDMONSON, A. J.; LEAN, J.; WEAVER, L. D.; FARVER, T.; Webster, G. A body condition scoring chart for Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 68–78, 1989.

EIGENBERG, R. A.; BROWN-BRANDL, T. M.; NIENABER, J. A. Development of a livestock weather safety monitor for feedlot cattle. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 23, n. 5, p. 657–660, 2007.

EUCLIDES FILHO, K., EUCLIDES, V. P. B. Desenvolvimento recente da pecuária de corte brasileira e suas perspectivas. In PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte** / Alexandre Vaz Pires. - - Piracicaba: FEALQ, 2010. V II, 760 p.

EUCLIDES V. P. B.; MACEDO, M. C. M.; OLIVEIRA, M. P. Animal production from tropical pastures renovated by subsoiling and fertilization in the Cerrados of Brazil. In INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., 2001, São Pedro, Brasil. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, 2001. P. 841–842.

FAÇANHA, D. A. E.; FERREIRA, J. B.; SOTO-BLANCO, B.; GUILHERMINO, M. M.; LEITE, J. H. G. M.; NERY, K. M.; VASCONCELOS, A. M.; COSTA, W. P. Multivariate approach to milk production and some physiological traits of crossbred dairy cows. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 4, p. 2851–2856, 2017.

FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; PIRES, A. V.; BIEHL, M. V.; SANTOS, M. H.; BARROSO, J. P. R.; GONÇALVES, J. R. S.; ROBERTO SARTORI, M.; DAY, M. L. Comparison of two timed artificial insemination system schemes to synchronize estrus and ovulation in Nellore cattle. **Theriogenology**, v. 86, n. 8, p. 1939–1943, 2016.

FERREIRA, F.; PIRES, M. F. A.; MARTINEZ, M. L.; COELHO, S. G.; CARVALHO, A. U.; FERREIRA, P. M.; FACURY FILHO, E. J.; CAMPOS, W. E. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 732–738, 2006.

FRANÇA, L. M.; RODRIGUES, A. S.; BRANDÃO, L. G. N.; LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M.; FERRAZ, P. A.; BITTENCOURT, R. F.; JESUS, E. O.; RIBEIRO FILHO, A. L. Comparação de dois ésteres de estradiol como indutores da ovulação sobre o diâmetro folicular e a taxa de gestação de bovinos leiteiros submetidos a programa de Inseminação Artificial em Tempo Fixo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.16, n.4, p.958-965, 2015.

GARCIA-ISPIERTO, I.; LÓPEZ-HELGUERA, I.; TUTUSAUS, J.; SERRANO, B.; MONLEÓN, E.; BADIOLA, J.; LÓPEZ-GATIUS, F. Coxiella burnetii shedding during the peripartum period and subsequent fertility in dairy cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 48, n. 3, p. 441–446, 2013.

GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; GIBBONS, J. R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of reproduction**. 55:1187–94, 1996.

GUTIÉRREZ, C. G.; GLAZYRIN, A. L.; ROBERTSON, G. W.; CAMPBELL, B. K.; GONG, J. G.; BRAMLEY, T. A.; WEBB, R. Ultra-structural characteristics of bovine granulosa cells associated with maintenance of oestradiol production in vitro. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 134, n. 1, p. 51–58, 1997.

GUZELOGLU, A.; AMBROSE, J. D.; KASSA, T.; DIAZ, T.; THATCHER, M. J.; THATCHER, W. W. Long-term follicular dynamics and biochemical characteristics of dominant follicles in dairy cows subjected to acute heat stress. **Animal Reproduction Science**, v. 66, n. 1, p. 15–34, 2001.

GWAZDAUSKAS, F. C.; THATCHER, W. W.; KIDDY, C. A.; PAAPE, M. J.; WILCOX, C. J. Hormonal patterns during heat stress following PG-F2 α -tham salt induced luteal regression in heifers. **Theriogenology**, v. 16, n. 3, p. 271–285, set. 1981.

HADDAD, C. M.; MENDES, C. Q. Manejo da estação de monta, das vacas e das crias. In PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte** / Alexandre Vaz Pires. – Piracicaba: FEALQ, 2010. V II, p. 760.

HANSEN, P. J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Animal Reproduction Science**, v. 82–83, p. 349–360, 2004.

HAWK, H. W. Sperm survival and transport in the female reproductive tract. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 12, p. 2645–2660, 1983.

IBANESCU, I.; SIUDA, M.; BOLLWEIN, H. Motile sperm subpopulations in bull semen using different clustering approaches–Associations with flow cytometric sperm characteristics and fertility. **Animal Reproduction Science**, v. 215, p. 106329, 2020.

INGRAHAM, R. H.; GILLETTE, D. D.; WAGNER, W. D. Relationship of Temperature and Humidity to Conception Rate of Holstein Cows in Subtropical Climate. **Journal of Dairy Science**, v. 57, n. 4, p. 476–481, 1974.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Censo Agropecuário 2017**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/21814-2017-censo-agropecuario.html?edicao=21858&ct=downloads>>. Acesso em: 10 jun. 2019.

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE. **Projeto TerraClass**. Online. Disponível em: <http://www.inpe.br/cra/projetos_pesquisas/terra-class2014.php>. Acesso em: 20 mai. 2016.

JINKS, E. M.; SMITH, M. F.; ATKINS, J. A.; POHLER, K. G.; PERRY, G. A.; MACNEIL, M. D.; GEARY, T. W. Preovulatory estradiol and the establishment and maintenance of pregnancy in suckled beef cows. **Journal of animal science**, v. 91, n. 3, p. 1176-1185, 2013.

KORNMATITSUK, B.; CHANTARAPRATEEP, P.; KORNMATITSUK, S.; KINDAHL, H. Different types of postpartum luteal activity affected by the exposure of heat stress and subsequent reproductive performance in holstein lactating cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, n. 5, p. 515–519, 2008.

KRININGER, C. E. BLOCK, J.; AL-KATANANI, Y. M.; RIVERA, R. M.; CHASE, C. C.; HANSEN, P. J. Differences between Brahman and Holstein cows in response to estrus synchronization, superovulation and resistance of embryos to heat shock. **Animal reproduction science**, v. 78, n. 1–2, p. 13–24, 15, 2003.

LEW, B. J.; MEIDAN, R.; WOLFENSON, D. Concentrações hormonais e desenvolvimento folicular de vacas leiteiras em hipertermia sazonal e aguda. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 816–822, 2006.

LÓPEZ-GATIUS, F.; LÓPEZ-BÉJAR, M.; FENECH, M.; HUNTER, R. H. F. Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: risk factors and effects. **Theriogenology**, v. 63, n. 5, p. 1298–1307, 15, 2005.

LU, J. C.; HUANG, Y. F.; LÜ, N. Q. Computer-aided sperm analysis: past, present and future. **Andrologia**, v. 46, n. 4, p. 329-338, 2014.

LUCY, M. C. Stress, strain, and pregnancy outcome in postpartum cows. **Animal Reproduction**, v. 16, n. 3, p. 455-464, 2019.

MACKEY, D. R.; SREENAN, J. M.; ROCHE, J. F.; DISKIN, M. G. Effect of acute nutritional restriction on incidence of anovulation and periovulatory estradiol and gonadotropin concentrations in beef heifers. **Biology of Reproduction**, v. 61, n. 6, p. 1601-1607, 1999.

MARTINS, C. M.; CASTRICINI, E. S. C.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular em novilhas e vacas nelore (*Bos indicus*) tratadas

com dispositivo intravaginal de progesterona novo ou reutilizado associado ou não a progesterona injetável. **Acta Scientiae Veterinarie**, v. 33, p. 227, 2005.

MILLER, B. G.; MOORE, N. W. Effects of progesterone and oestradiol on endometrial metabolism and embryo survival in the ovariectomized ewe. **The-riogenology**, v. 6, n. 6, p. 636-636, 1976.

MORAES, J. C. F.; SOUZA, C. J. H.; GONÇALVES, P. B. D.; FREITAS, V. J. F.; LOPES JÚNIOR, E. S. Controle de estro e da ovulação em ruminantes. In GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2ª ed. São Paulo: ROCA, 2008. p 33-53.

MORAIS, D. A. E. F.; MAIA, A. S. C.; SILVA, R. G.; VASCONCELOS, A. M.; LIMA, P. O.; GUILHERMINO, M. M.; Variação anual de hormônios tireoideanos e características termorreguladoras de vacas leiteiras em ambiente quente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 84, p. 538-545, 2008.

NÃÃS, I. A. **Principio de Conforto Termico na produção Animal**. São Paulo: Ícone, 1989.

NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition**. 7. ed. Washington DC: [s.n.], 2001.

O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M. P. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. **Animal Science**, v. 68, n. 2, p. 299–314, 1999.

OWEN, R.D. Bovine Estrus: Tools for Detection and Understand. In: FIELDS, M. J., SAND, R.S., YELICH, J.V. **Factors Affecting Calf Crop: Biotechnology of Reproduction**. Danvers, Massachusetts: CRC Press, 2001. Cap. 2. p. 9-21.

PERRY, G. A.; PERRY, B. L. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 34, n. 3, p. 333-338, 2008.

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; LUCY, M. C.; GREEN, J. A.; PARKS, T. E.; MACNEIL, M. D.; GEARY, T. W. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 14, p. 5268-5273, 2005.

PERRY, G.A.; SMITH, M.F.; ROBERTS, A.J.; MACNEIL, M.D.; GEARY, T. W. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal of animal science**, v. 85, n. 3, p. 684-689, 2007.

PERRY, G.A.; PERRY, B. L. GnRH treatment at artificial insemination in beef cattle fails to increase plasma progesterone concentrations or pregnancy rates. **Theriogenology**, v.71, p.775–779, 2009.

PFEIFER, L. F. M.; CASTILHO, E. M.; SCHNEIDER, A.; LUZ, E. M.; LUCIA JÚNIOR, T.; DIONELLO, N. J. L.; CORRÊA, M. N. Utilização de cloprostenol sódico e benzoato de estradiol em vacas de corte inseminadas em tempo-fixo ou com observação de cio. **Ciência Animal Brasileira**, 2007.

PFEIFER, L. F. M.; JÚNIOR, J. S. O.; POTIENS, J. R. Effect of sperm kinematics and size of follicle at ovulation on pregnancy rate after timed AI of beef cows. **Animal reproduction science**, v. 201, p. 55-62, 2019.

PFEIFER, L. F. M.; RODRIGUES, W. B.; CASANOVA, K. S.; ANACHE, N. A.; CASTRO, N. A.; CASTILHO, E. M.; NOGUEIRA, E. Different protocols using PGF2 α as ovulation inducer in Nelore cows subjected to estradiol-progesterone timed AI based protocols. **Theriogenology**, v. 120, p. 56-60, 2018.

PIMENTEL, P. G.; MOURA, A. A. A. N.; NEIVA, J. N. M.; ARAÚJO, A. A.; TAIR, R. F. L. Consumo, produção de leite e estresse térmico em vacas da raça Pardo-Suíça alimentadas com castanha de caju. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1523-1530, 2007.

RANDALL, M. Physiology of Stress: Cortisol and the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. **DUJS Online - The Darmouth Undergraduate Journal of Science**, 2010.

REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; NASSER, C. L. F.; COSTA NETO, W. P.; BARUSELLI, P. S. Aumento da taxa de concepção em receptoras de embrião bovino com maiores concentrações plasmáticas de progesterona no dia da inovulação. **Acta Scientiae Veterinariae**, 32: 88, 2004.

RHODES, F. M.; FITZPATRICK, L. A.; ENTWISTLE, K. W.; DE'ATH, G. Before and After Nutritional Anoestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 104, , p. 41-49, 1994.

RIBEIRO FILHO, A. L.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C.; LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M. Diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e taxa de concepção em vacas nelore. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 501-507, 2013.

RICHARDSON, B. N.; HILL, S. L.; STEVENSON, J. S.; DJIRA, G. D.; PERRY, G. A. Expression of estrus before fixed-time AI affects conception

rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. **Animal reproduction science**, v. 166, p. 133-140, 2016.

ROMAN-PONCE, H.; THATCHER, W. W.; WILCOX, C. J. Hormonal interrelationships and physiological responses of lactating dairy cows to a shade management system in a subtropical environment. **Theriogenology**, v. 16, n. 2, p. 139-154, 1981.

RONDÔNIA. **Indicador de Anomalia da Precipitação Mensal: Índice “BMDI” no Estado de Rondônia, Período Chuvoso 2017-2018**. Porto Velho: Secretaria de Estado do Desenvolvimento Ambiental - SEDAM, 2018.

ROSENBERG, M.; FOLMAN, Y.; HERZ, Z.; FLAMENBAUM, I.; BERMAN, A.; KAIM, M. Effect of climatic conditions on peripheral concentrations of LH, progesterone and oestradiol-17 β in high milk-yielding cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 66, n. 1, p. 139-146, 1982.

ROSENBERGER, M.; CHUN, S.Y.; KAIM, M.; HERZ, Z.; FOLMAN, Y. The effect of GnRH administered to dairy cows during oestrus on plasma LH and conception in relation to the time of treatment and insemination. **Animal Reproduction Science**. v. 24, p. 13-24, 1991.

SÁ FILHO, M. D.; CRESPILO, A. M.; SANTOS, J. E. P.; PERRY, G. A.; BARUSELLI, P. S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, v. 120, n. 1-4, p. 23-30, 2010.

SÁ FILHO, M.F.; SANTOS, J. E. P.; FERREIRA, R. M., SALES, J. N. S., BARUSELLI, P. S. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenology**, v. 76, p.455-463, 2011.

SANTOS, I. A. P. **Efeito do época do ano e da suplementação energético-proteica no metabolismo, comportamento ingestivo e resposta ovariana de vacas leiteiras criadas no Bioma Amazônia**. 58 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional em Meio Ambiente, Fundação Universidade Federal de Rondônia, Porto velho, 2021.

SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M. M. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, , p. 422–432, 2010.

SCHMIDT, H.; KAMP, G. Induced hyperactivity in boar spermatozoa and its evaluation by computer-assisted sperm analysis. **Reproduction**, v. 128, n. 2, p. 171–179, 2004.

SCHÜLLER, L. K.; BURFEIND, O.; HEUWIESER, W. Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature-humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. **Theriogenology**, v. 81, n. 8, p. 1050–1057, 2014.

SEGUI, M. S.; WEISS, R. R.; CUNHA, A. P.; ZOLLER, R. Indução ao estro em bovinos de corte (Estrus induction in beef cattle). **Archives of Veterinary Science**, v. 7, n. 2, p. 173–178, 2002.

SHEHAB-EL-DEEN, M. A. M. M.; LEROY, J. L. M. R.; FADEL, M. S.; SALEH, S. Y. A.; MAES, D.; VAN SOOM, A. Biochemical changes in the follicular fluid of the dominant follicle of high producing dairy cows exposed to heat stress early post-partum. **Animal Reproduction Science**, v. 117, n. 3, p. 189–200, 2010.

SILVA, G. M. **Grau de hiperativação espermática e cio na prenhez de vacas de corte inseminadas em tempo fixo**. 2021. 45 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional em Meio Ambiente, Fundação Universidade Federal de Rondônia, Porto velho, 2021.

SILVA, R. G.; MORAIS, D. A. E. F.; GUILHERMINO, M. M. Evaluation of thermal stress indexes for dairy cows in tropical regions. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 4 SUPPLEMENT, p. 1192–1198, ago. 2007.

SOUZA, B. B.; BATISTA, N. L. Os efeitos do estresse térmico sobre a fisiologia animal. **Agropecuária Científica No Semiárido**, v. 8, n. 3, p. 6–10, 2012.

SOUZA, D. R.; SILVA, F. F.; ROCHA NETO, A. L.; SILVA, V. L.; DIAS, D. L. S.; SOUZA, D. D.; ALMEIDA, P. J. P.; PONDÉ, W. P. S. T. S. Suplementação proteica a pasto sob o consumo, digestibilidade e desempenho na terminação de novilhos Nelore na época das águas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 4, p. 1121–1132, 2012.

SOUZA, V. L. **Avaliação da fertilidade do rebanho bovino de Rondônia e o uso da detecção de cio e do GnRH para aumentar a eficiência de programas de IATF**. 2019. 39 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional em Meio Ambiente, Fundação Universidade Federal de Rondônia, Porto velho, 2019.

SOUZA, V. L.; NEVES, P. M. A.; ANDRADE, J. S.; FERREIRA, R.; PFEIFER, L. F. M. Efeito do cipionato de estradiol (ECP) na incidência de cio em vacas castradas. In **VIII Encontro de Iniciação à Pesquisa da Embrapa Rondônia e III Encontro de Pós-graduação, 2017** / editor, Luiz Francisco Machado Pfeifer. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2017. 79p.

STEVENSON, J. S.; TIFFANY, S. M.; LUCY, M. C. Use of estradiol cypionate as a substitute for GnRH in protocols for synchronizing ovulation in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v. 87, p. 3298–3305. 2004.

STOBER, M. Identificação, Anamnese, regras básicas da técnica do exame clínico geral. In: **Exame clínico dos bovinos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1993. p. 419.

THOM, E. C. The discomfort index. **Weatherwise**, v. 12, p. 5761, 1959.

TURCO, C. P. **Melhoramento Genético ao Alcance do Produtor: bovino-cultura de corte**. Bebedouro: Ed. SCOT CONSULTORIA, 2006. 169p.

ULLAH, G.; FUQUAY, J. W.; KEAWKHONG, T.; CLARK, B. L.; POGUE, D. E.; MURPHEY, E. J. Effect of gonadotropin-releasing hormone at estrus on subsequent luteal function and fertility in lactating Holsteins during heat stress. **Journal of dairy science**, v. 79, n. 11, p. 1950–3, 1996.

VASCONCELOS, A. M.; ALBUQUERQUE, C. C.; CARVALHO, J. F.; FAÇANHA, D. A. E.; LIMA, F. R. G.; SILVEIRA, R. M. F.; FERREIRA, J. Adaptive profile of dairy cows in a tropical region. **International Journal of Biometeorology**, v. 64, n. 1, p. 105–113, 2020.

VICKERS, L. A.; BURFEIND, O.; VON KEYSERLINGK, M. A. G.; VEIRA, D. M.; WEARY, D. M.; HEUWIESER, W. Technical note: Comparison of rectal and vaginal temperatures in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 11, p. 5246–5251, 2010.

WEBB, R.; GARNSWORTHY, P. C.; GONG, J-G.; ARMSTRONG, D. G. Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. **Journal of animal science**, v. 82, n. 63–74, p. 2299–2302, 2004.

WHEATON, J. E.; LAMB, G. C. Induction of cyclicity in postpartum anestrous beef cows using progesterone, GnRH and estradiol cypionate (ECP). **Animal Reproduction Science**. v. 102, p. 208–216, 2007.

WILSON, S. J.; MARION, R. S.; SPAIN, J. N.; SPIERS, D. E.; KEISLER, D. H.; LUCY, M. C. Effects of Controlled Heat Stress on Ovarian Function of Dairy Cattle. Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 8, p. 2124–2131, 1998.

WISE, M. E.; ARMSTRONG, D. V.; HUBER, J. T.; HUNTER, R.; WIERSMA, F. Hormonal Alterations in the Lactating Dairy Cow in Response to Thermal Stress. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 9, p. 2480–2485, set. 1988.

ZIMBELMAN, R. B.; RHOADS, R. P.; RHOADS, M. L.; DUFF, G. C.; BAUMGARD, L. H.; COLLIER, R. J. A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows. **Arizona and New Mexico Dairy Newsletter**, p. 158–169, 2009.